ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1981 N° 73

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire

(Diplôme d'État)

Contribution à l'étude de la toxicite du paraquat

présentée et soutenue publiquement 1981

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

GUILPAIN Philippe, Gérard, Claude

né le 20 Janvier 1956 à BUZANÇAIS (Indre)

JURY

Président : M. MONTASTRUC
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. GODFRAIN — *Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*

Mme BURGAT-SACAZE — *Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*

AUCAMVILLE

IMPRIMERIE BÉGUÉ

77, CHEMIN DE LESPINASSE

1981

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1981 N° 73

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire

(Diplôme d'État)

Contribution à l'étude de la toxicite du paraquat

présentée et soutenue publiquement

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

GUILPAIN Philippe, Gérard, Claude

né le 20 Janvier 1956 à BUZANÇAIS (Indre)

JURY

Président : M. MONTASTRUC
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. GODFRAIN, Mme BURGAT-SACAZE — *Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*

AUCAMVILLE

IMPRIMERIE BÉGUÉ

77, CHEMIN DE LESPINASSE

1981

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE
Directeur honoraire ..... M. FLORIO
Professeurs Honoraires ..... M. BRIZARD
M. BERTHELON
M. SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître-Assistant ..... M. BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie Biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître-Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître-Assistant ..... M. SAUTET

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie et Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET D'INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître de Conférences ..... M. EECHKOUTTE
Maître-Assistant agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des Denrées alimentaires d'Origine Animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître-Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître Assistant ..... M. REGNIER

Semiologie et Pathologie Médicale des Equides et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître-Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître-Assistant Agrégé ..... M. GENEVOIS
Maître-Assistant ..... M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie
Chirurgicale - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL
Maître-Assistant Agrégé ..... M. TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie
de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître de Conférences ..... M. GANIERE
Maître-Assistant ..... M. PICAVET

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître-Assistant ..... M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître-Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée
Hygiène Générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions Animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES

UNIV. Les LEIDEN BIBL.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924)

Aux miens et à mes amis

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MONTASTRUC
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

qui a bien voulu nous faire l'honneur
de présider notre jury de thèse

Hommages respectueux -

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GODFRAIN
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

qui a accepté le sujet de notre thèse
qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre profonde reconnaissance pour sa
haute bienveillance à notre égard -

Hommages respectueux -

MADAME LE PROFESSEUR BURGAT-SACAZE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

qui nous a guidé dans notre travail
et qui nous a toujours accueilli avec
sympathie.
En témoignage de notre profonde reconnaissance
pour les conseils qu'elle nous a prodigués.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RICO
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

qui nous a reçu avec sympathie dans son service pour réaliser notre expérimentation.
Qu'il trouve ici l'expression de notre vive gratitude.

A MONSIEUR LE MAITRE-ASSISTANT BENARD
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

sans les conseils duquel cette étude n'aurait pu être menée à bien.

Nous le remercions bien sincèrement pour le travail qu'il a effectué.

P L A N

INTRODUCTION

. PREMIÈRE PARTIE : PROPRIETES GENERALES ET TOXICOLOGIE DU PARAQUAT

1) STRUCTURE

2) PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

- 2.1 - Propriétés physiques
- 2.2 - Propriétés chimiques

3) TOXICOLOGIE DU PARAQUAT

- 3.1 - Toxicologie clinique
  - 3.1.1. - Etiologie
  - 3.1.2. - Intoxication aigüe=symptômes
  - 3.1.3. - Autres effets toxiques
- 3.2 - Etude anatomo-pathologique
  - 3.2.1. - Lésions macroscopiques
  - 3.2.2. - Lésions microscopiques
    - 3.2.2.1. Lésions pulmonaires
    - 3.2.2.2. Lésions des autres organes

. DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

1) Protocole expérimental

- 1.1. - Le produit
- 1.2. - Les animaux et la posologie
- 1.3. - Technique utilisée

2) Résultats :

2.1 - Cinétique de distribution de la radioactivité

2.2 - Localisations de la radioactivité

2.2.1. - Appareil respiratoire

2.2.2. - Reins

2.2.3. - Glandes surrénales

2.2.4. - Structures cartilagineuses

2.2.5. - Oeil et annexes

2.2.6. - Cerveau

2.2.7. - Tube digestif et annexes

3) Discussion :

3.1 - Absorption

3.2 - Distribution

3.3 - Elimination

. TROISIEME PARTIE : RELATIONS ENTRE METABOLISME ET TOXICITE

1) Métabolisme et toxicité pulmonaire du paraquat

1.1. - Fixation pulmonaire

1.2. - Mécanisme d'action

1.2.1 - Peroxydation des lipides

1.2.2 - Inhibition de la biosynthèse lipidique

2) Autres localisations tissulaires et toxicité

. CONCLUSION

. ANNEXE

- Tableau densitométrique
- Planches photographiques

. BIBLIOGRAPHIE

I N T R O D U C T I O N

Depuis le milieu de la décennie 1960-1970, le paraquat ou dichlorure de 1,1'- dimethyl 4,4'-dipyridylium est l'un des herbicides les plus largement employés en milieu agricole en raison de sa grande efficacité et de sa très faible rémanence. Sa toxicité est néanmoins très importante puisque l'ingestion d'une cuillerée à café du produit commercialisé entraîne la mort chez l'homme : c'est pour cela qu'il est inscrit au tableau A des substances vénéneuses, section 1.

Synthétisé pour la première fois à la fin du XIX^{e} siècle, il fut longtemps utilisé par les chimistes, sous le nom de méthylviologène, comme indicateur coloré dans les réactions d'oxydoréduction et la détermination des potentiels redox de composés biologiques transporteurs d'électrons. Dans les années 1950, ses propriétés herbicides sont découvertes par la "Imperial Chemical Industries" (Angleterre), et il est commercialisé en 1965. Il sera ainsi employé pour le contrôle et l'aménagement de la végétation terrestre et aquatique.

Depuis l'utilisation agricole de ce composé, un certain nombre de cas d'intoxications humaines

et animales ont été rapportés : de nombreux scientifiques ont dirigé leurs travaux vers une étude approfondie du mécanisme de sa toxicité.

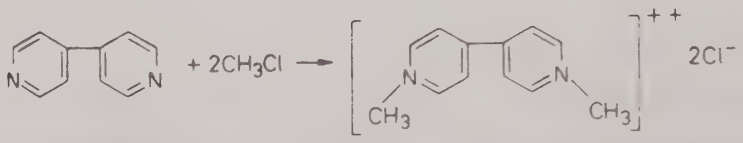
Dans une première partie, nous envisagerons les propriétés générales et la toxicité du paraquat puis une seconde partie sera consacrée au métabolisme de ce produit et notamment aux résultats expérimentaux obtenus par autoradiographie macroscopique chez le lièvre ; la troisième partie sera, elle, consacrée à l'étude des relations existant entre le métabolisme et la toxicité du composé.

PREMIERE PARTIE

PROPRIETES GENERALES ET TOXICOLOGIE DU PARAQUAT

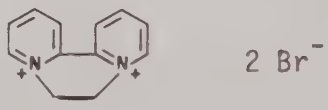
I - STRUCTURE

Le paraquat appartient au groupe des dipyridyliums ; c'est un ammonium quaternaire dérivé de la 4,4'- dipyridine :



4,4' - dipyridine — dichlorure de 1,1'-dimethyl 4,4'-dipyridylium (paraquat)

Dans ce même groupe de composés, existe aussi le diquat, dérivé, lui de la 2,2' - dipyridine :



dibromure de 1,1' éthylène 2,2' dipyridylium (diquat)

Ces deux structures sont coplanaires ; ce caractère est indispensable à l'activité herbicide (3).

II - PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

2.1) Propriétés physiques

Sous forme de dichlorure, le Paraquat est un solide cristallisé à température ordinaire, incolore et hygroscopique. Il est soluble dans l'eau (0,7g/l), le méthanol, et insoluble dans la plupart des solvants organiques.

La solution aqueuse est incolore, stable à pH acide ou neutre, ininflammable, inexplosive et non volatile.

2.2) Propriétés chimiques

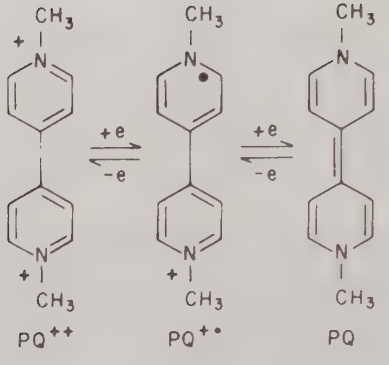
La propriété chimique essentielle des dipyridyliums concerne leur oxydo-réduction. Plusieurs de ces composés sont connus en chimie depuis longtemps sous le nom de viologènes (méthyl-viologène pour le paraquat). On a apprécié, notamment en biologie, leurs particularités : coloration violette de la forme réduite, potentiel redox indépendant du pH. Par ailleurs, la réduction du paraquat est impliquée dans l'activité herbicide et la toxicité.

Cette réaction procède en deux étapes :

. *Première étape* : formation d'un radical libre, relativement stable, très coloré, hydrosoluble, par addition d'un électron à la molécule de cation divalent. L'électron impair est "partagé" entre toutes les positions sur le cycle.

Cette étape est entièrement réversible (3,39), le radical obtenu étant facilement réoxydé en cation d'origine.

. *Deuxième étape* : réduction complète par addition d'un second électron à la molécule et obtention d'un composé incolore. Cette étape est irréversible.



Les ions chlorures n'interviennent pas dans la réaction.

Ces propriétés sont mises à profit pour la détermination du paraquat en toxicologie analytique (30,53,18).

Après déprotéinisation de l'échantillon biologique, le paraquat est extrait par chromatographie d'échange d'ions, puis dosé après réduction par le dithionite de sodium. Le composé bleu obtenu est comparé en colorimétrie (600 nm) à une gamme étalon.

3) Toxicologie du paraquat

Le nombre, la gravité et les particularités des intoxications par le paraquat observées chez l'homme et l'animal ont suscité de nombreux travaux. Ils concernent essentiellement : l'aspect clinique du problème que nous décrirons dans diverses espèces animales, la spécificité des lésions tissulaires, notamment pulmonaires et biochimiques que nous envisagerons par la suite.

3.1) Toxicologie clinique

L'intoxication après ingestion évolue sur le mode aigü en une quinzaine de jours et est caractérisée par le développement d'une *fibrose*

pulmonaire irréversible et mortelle.

3.1.1. Etiologie

En médecine vétérinaire, les intoxications ont été décrites dans plusieurs espèces animales après ingestion (plus rarement inhalation) accidentelle lors d'épandage du produit en tant qu'herbicide.

Le paraquat est véhiculé par la sève des végétaux. Il détruit dicotylédones et graminées, mais respecte les plantes ligneuses. On utilise ce composé (1)pour le désherbage des vignes, des vergers, des pépinières de plantes ligneuses (cassis et groseillers, à raison de 800g/ha), de la luzerne (600 g/ha), pour la destruction des prairies à ressemer (1600 g/ha), ou encore le desherbage de toutes cultures (traitement effectué avant la levée des plantes concernées, traitement dit de prélevée, à la dose de 600 g/ha, ou bien traitement effectué après la levée des plantes considérées, traitement de post levée, à la dose de 800 g/ha) et la destruction des betteraves montées dans des conditions fixées par l'arrêté du 23 juin 1980.

Le paraquat peut-être utilisé sur toutes cultures, mais en évitant la projection sur le feuillage, à l'aide d'un pulvérisateur spécialement adapté.

Les luzernes ne devront pas être traitées par rosée ou temps humide.

Enfin l'arrêté du 17 décembre 1974 interdit l'usage du paraquat en traitement aérien.

Les présentations commerciales sont à l'heure actuelle les suivantes :

- Gramoxone 2, Gramixel : 200 g de paraquat/l
- Gramoxone spécial, Gramixel spécial : 40g de paraquat/l
- En association : avec le diquat (Triglone) ou avec la simazine (Terraklène).

Dans la composition des spécialités doit obligatoirement entrer une substance répulsive odorante et émétisante.

Ces formules commerciales sont diluées dans l'eau au moment de l'emploi à raison de 1°/₀₀ à 2°/₀₀.

Le produit étant très peu rémanent, le risque d'intoxication aigüe après pulvérisation n'est donc que temporaire ; de plus, l'épandage de 1000g de produit actif par hectare (ce qui correspond aux normes d'emploi), correspondrait à l'ingestion, chez les bovins, de 7 mg par kg de poids vif seulement, donc une dose très inférieure à la DL_{50} (tableau 1).

Les accidents relatés dans la littérature vétérinaire sont d'ailleurs à mettre en rapport avec un manque de précautions dans l'emploi de l'herbicide : ainsi en était-il des bovins intoxiqués par l'abreuvement dans des flaques d'eau proches de la culture traitée, et qui furent contaminées (18), ou bien d'un chien ayant absorbé le contenu d'un récipient dans lequel avait été délayé le paraquat (40) ; de même en a-t-il été

d'un chien et d'un chat qui ont mangé de l'herbe traitée par du Gramoxone utilisé non dilué (33), ou d'un autre chien mis en contact direct avec l'herbicide près d'un champ pulvérisé deux fois par mois (16), ou encore de porcs empoisonnés délibérément par injection de paraquat dans les sacs d'aliments (56).

Espèce animale	DL_{50} per os	Références
Rat	100 - 160 mg/kg	46-34
Cobaye	30 mg/kg	46-43
Lièvre	5-35 mg/kg	19-46
Bovins	35-75 mg/kg	46
Ovins	100 mg/kg	46-43
Chien	25 - 50 mg/kg	26
Dindon	290 mg/kg	62

Tableau n° 1 : DL_{50} per os du paraquat dans différentes espèces animales

Chez l'homme, les voies d'absorption sont très variées et celle-ci a lieu le plus souvent par absence des précautions requises pour l'emploi de l'herbicide ; on note ainsi la possibilité d'une absorption percutanée ou respiratoire (46), ou même par projection sur l'oeil (46) ; mais ces

modes de contamination n'entrainent le plus souvent que des troubles locaux, contrairement à la voie digestive (27,29).

3.1.2. Intoxication aigüe : symptômes

L'intoxication aigüe par la paraquat est *polymorphe* et évolue en *deux phases* :

- Une première, consécutive à l'action irritante du produit sur la muqueuse digestive.
- Une seconde, dans laquelle se manifestent l'atteinte respiratoire caractéristique et des troubles digestifs, nerveux, rénaux, cardiaques inconstants et variables selon les espèces.

a) Première phase :

Les premiers signes de l'empoisonnement traduisent *l'effet corrosif local* du paraquat sur les muqueuses. Lors d'ingestion, on peut ainsi observer une cavité buccale oedémateuse (15), une ulcération superficielle extensive de la langue, notamment chez le chat (33), des brûlures de la bouche et de la gorge (17,34) et une forte sialhorrée (20).

Chez l'homme, où le contact du produit avec la peau ou l'absorption par voie respiratoire ne sont pas rares, on note une atteinte de la peau et de la muqueuse nasale avec possibilité d'ulcérations (27,34)

Des *troubles digestifs* apparaissent ensuite : vomissements et diarrhée sont constants dans toutes les espèces (16,46,49,56,62,63) ; chez l'homme, ces symptômes sont associés à de fortes coliques (63)

Chez les Ruminants, la diarrhée peut devenir hémorragique et peut être suivie d'une stase du rumen (69).

Cette première phase évolue en deux à trois jours et est en général suivie d'une période de rémission.

b) Deuxième phase :

Les troubles constants dans toutes les espèces animales et qui caractérisent le tableau clinique sont des *troubles respiratoires* ; ceux-ci se développent progressivement et entrainent la mort en quelques jours.

On observe des symptômes témoignant d'une obstruction de l'appareil pulmonaire : respiration bruyante et difficile (15,16,40,56,69), accompagnée souvent de tachypnée (26,33,71). Puis, liés à des lésions pulmonaires irréversibles évoluant en quelques jours, apparaissent des symptômes d'insuffisance respiratoire, avec notamment asphyxie et cyanose des muqueuses (15,16,26,33), se terminant par la mort du malade.

Pendant la phase pulmonaire, à l'auscultation, les râles expiratoires sont prédominants (26). Les examens radiographiques, réalisés chez l'homme et les carnivores, mettent en évidence dans un premier temps une augmentation du volume pulmonaire et du diamètre trachéal, accompagnée souvent d'un épanchement pleural (7). Les modifications caractéristiques n'apparaissent qu'ultérieurement, sous forme de nombreuses opacités coalescentes, qui témoignent d'un processus lésionnel de prolifération fibroblas-

tique diffuse qui englobe les alvéoles, les bronchioles, les bronchioles terminales et les vaisseaux. L'apparition de ces signes laisse envisager dans tous les cas un pronostic très sombre (23).

On doit relever cependant que chez les ruminants, les manifestations cliniques de la pneumopathie sont souvent discrètes et s'accompagnent d'une toux, dont l'intensité augmente progressivement (18,46).

Outre l'atteinte respiratoire , divers *troubles rénaux, cardiaques et nerveux* peuvent se développer ; ils sont inconstants et variables selon l'espèce animale considérée :

- *chez les primates, l'insuffisance rénale* prédomine. La diurèse reste le plus souvent normale et l'oligurie et l'anurie sont rares chez l'homme, mais l'urémie s'accroît (42,68), une protéinurie (16,17,68) et une glucosurie apparaissent (42,68).
- *chez les carnivores, la région rénale* est douloureuse à la palpation (26).

On observe également un *ictère* (56)

- *chez les ruminants* (46,69), les *troubles nerveux* semblent fréquents.

L'hypersensibilité se traduit par des réactions exagérées aux sollicitations extérieures ; une incordination motrice, des pertes d'équilibre ou des postures anormales sont également observées.

Ces troubles évoluent en général en dix à quinze jours vers un état comateux conduisant à la

mort par insuffisance respiratoire. Une étude sur 24 cas d'intoxication accidentelle chez l'homme, rapporte 15 cas de guérison sans séquelle, un cas de séquelles respiratoires et 8 cas de décès (29).

D'un point de vue clinique, l'intoxication aigüe par le paraquat est donc caractérisée, après une phase liée à la causticité du produit, par une pneumopathie relativement lente et le plus souvent irréversible. Cette symptomatologie très pathognomonique est cependant beaucoup plus frustre chez les lagomorphes. Chez ceux-ci en effet, l'absence de descriptions de l'intoxication dans le milieu naturel a conduit certains auteurs à préciser l'évolution clinique à partir de résultats obtenus par expérimentation.

Ainsi chez le lapin, dont il faut souligner la résistance vis-à-vis de l'herbicide, plusieurs études ont montré que, suite à une ingestion de paraquat dans l'eau de boisson, cet animal ne présente que des signes d'atonie et une hypersécrétion salivaire (20) ; par contre l'inhalation d'un aérosol contenant une forte concentration du composé (10g/100ml d'eau), entraine la mort rapide en une douzaine d'heures après le développement de troubles respiratoires importants, tels que cyanose, dyspnée, râles inspiratoires et expiratoires à l'auscultation, et des manifestations de tachycardie. Un aérosol moins concentré (200 mg/100 ml d'eau), s'il ne provoque pas la mort des sujets qui lui sont exposés, entrainera toutefois les mêmes symptômes d'atteinte

respiratoire (60).

Le lièvre, qui est beaucoup plus sensible que le lapin, présente quant à lui, après administration orale de luzerne traitée au paraquat (27 à 43 p.p.m. selon les lots), une ulcération étendue de la langue, qui est recouverte d'un enduit blanchâtre et visqueux ainsi que le développement de troubles respiratoires semblables à ceux observés chez le lapin, conduisant à la mort dans 50% des cas (19).

3.1.3) Autres effets toxiques :

- Vis à vis de *l'embryon ou du foetus*, les effets toxiques du paraquat paraissent mineurs. Chez la souris, aucun effet tératogène n'a été mis en évidence ; seule une ossification défectueuse des sternèbres a été rapportée (11) ; par ailleurs, l'herbicide ne provoque aucun trouble pulmonaire dans l'organisme embryo-foetal (10).

Chez l'embryon de caille et de poule, la pulvérisation du produit sur des oeufs embryonnés entraine une pseudoféminisation des mâles et une réduction importante des gonocytes dans les deux sexes (44).

Par ailleurs, quelques expériences ont porté sur la *toxicité chronique* du paraquat. Les résultats chez les rongeurs démontrent que l'administration du composé à raison de 100 p.p.m. dans l'eau de boisson à des femelles à partir du début de la gestation et avec exposition continue des produits jusqu'au 42e jour après la naissance, entraine une augmentation nette de la mortalité postnatale (10).

Chez les bovins, l'absorption per os de $\frac{1}{2}DL_{50}$

par jour pendant deux semaines n'a entrainé aucun trouble (13).

Chez l'homme, des enquêtes épidémiologiques en milieu professionnel ont montré que l'exposition continue au paraquat pendant 12 semaines a causé un grand nombre d'incidents dûs aux effets locaux de l'herbicide (cutanés, oculaires, atteinte de la muqueuse nasale et des ongles), mais aucun signe clinique ou radiologique (27).

Donc la toxicologie du paraquat est intimement liée à des phénomènes d'intoxication aigüe dont la particularité est le développement relativement lent d'une fibrose pulmonaire ; elle traduit la toxicité particulière de ce type de composés pour le poumon, et laisse supposer une altération cellulaire extrêmement grave.

3.2) Etude anatomo-pathologique :

3.2.1) Lésions macroscopiques :

L'autopsie des animaux intoxiqués par le paraquat révèle diverses lésions dont les plus importantes et les plus fréquentes sont :

- une *congestion généralisée*
- une *atteinte des poumons* avec oedème, fibrose et hémorragies punctiformes.
- une *gastroentérite sévère* révélée par la présence d'ulcères recouverts de pseudomembranes et d'un mucus plus ou moins abondant parfois sanguinolent dans le tube digestif avec épaississement de la paroi intestinale.

- Chez l'homme, on observe souvent de plus des lésions de *néphrite aigüe* avec hypertrophie rénale et une atteinte cytolytique du foie se traduisant par un *ictère* (15,2)
- Chez les carnivores prédomine un *syndrôme hémorragique*. Des ecchymoses sous cutanées existent dans la région des cuisses, associées à de nombreuses hémorragies punctiformes sur la paroi de la vésicule biliaire, et à des hémorragies importantes dans la vessie (16,26,40).
- Chez les Ruminants, la *gastroentérite le plus souvent hémorragique* provoque des lésions importantes. Le rumen est rempli de mousse, de liquide et d'aliments non digérés vert foncé ; la rate est plus claire et plus petite (69,46)
- Chez le porc, le tableau lésionnel classique est respecté. Le seul détail à noter dans cette espèce est une *splénomégalie* (56)

3.2.2) Lésions microscopiques :

3.2.2.1) Lésions pulmonaires :

Elles témoignent essentiellement de lésions pathognomoniques correspondant à une fibrose pulmonaire proliférative.

Heath et Smith (31) ont décrit trois phases successives :

. Première phase destructive caractérisée par la dégénérescence hydropique des pneumocytes de type I puis de type II (70). Les pneumocytes I (ou pneumocytes membraneux) apparaissent remplis de grosses

vacuoles cytoplasmiques ainsi que de nombreux ribosomes (34). Les pneumocytes de type II (ou pneumocytes granuleux) présentent des mitochondries gonflées avec diminution de densité de la matrice et des corps lamellaires de formes irrégulières (73).

En quelques jours, les cloisons alvéolaires sont ainsi dépourvues de leurs cellules épithéliales.

. Deuxième phase d'oedème pulmonaire, associée à une congestion capillaire. L'oedème est attribué à une déficience en surfactant provenant de la destruction des pneumocytes granuleux.
De nombreux animaux peuvent mourir dans cette phase aigüe.

. Troisième phase : fibrose proliférative ; elle débute par l'apparition en quelques jours dans l'espace alvéolaire de fibroblastes immatures (ou profibroblastes), irréguliers, au contour découpé, au cytoplasme modérément éosinophile, non vacuolisé et dont le noyau est gros, ovoïde et excentré ; ces cellules proviendraient de monocytes sanguins après métaplasie. Les alvéoles sont envahis en une semaine par ces profibroblastes qui se transforment progressivement en fibroblastes plus gros, plus basophiles et allongés. Enfin dévolution, l'apparence histologique du poumon est celle d'une masse dense de tissu fibroblastique.

En pratique, les divers phénomènes de dégénérescence, envahissement fibroblastique, congestion et hémorragies intra-alvéolaires coexistent.

Les cloisons alvéolaires sont épaissies par augmentation du tissu fibreux et prolifération des fibrocytes (66) ; les alvéoles apparaissent remplis

de membranes hyalines et infiltrés de neutrophiles et de nombreux macrophages (26,19) qui participeraient au "nettoyage" des débris cellulaires (51). Ces derniers sont d'ailleurs assez rares chez le chien où ils représentent la seule réaction cellulaire (33).

Les cellules endothéliales des capillaires sont atteintes les dernières : elles s'hypertrophient, puis les capillaires se rompent, entrainant ainsi les hémorragies décrites (52).

D'autre part, se développe une hyperplasie des cellules épithéliales dans de nombreuses bronchioles terminales (26), puis la nécrose de ces cellules suivie de régénération (16)

3.2.2.2) Lésions des autres organes:

. Lésions hépatiques (33,26) : il existe une dégénérescence périportale et une congestion sévère de la veine hépatique.

. Lésions rénales : ce sont celles d'une néphrose tubulaire proximale (33,12) avec hyperplasie cellulaire (26,6) accompagnée d'un développement exagéré du réticulum endoplasmique lisse et de la présence de cytosomes à lamelles concentriques (24). Puis se développe la nécrose des cellules tubulaires et de quelques glomérules (33).

. Lésions spléniques : les sinus sont congestionnés, à leurs cellules endothéliales hypertrophiées. La pulpe blanche est atrophiée ; la pulpe rouge contient des polynucléaires neutrophiles, des cellules erythrophagocytaires et des débris cellulaires. On

note également une hémosidérose modérée (26).

. Lésions des glandes surrénales : (26) les cellules du cortex surrénal montrent de grandes vacuoles cytoplasmiques dans la zone glomérulée, déplaçant leur noyau à la périphérie. Il existe également de petites hémorragies corticales.

Une structure ammonium quaternaire, une toxicologie clinique consistant en une atteinte pulmonaire aigüe irréversible et mortelle dans la plupart des cas, des lésions pulmonaires caractéristiques de fibrose proliférative, telles sont les particularités du paraquat, qui laisse persister beaucoup d'inconnues quant à son mode d'action ; toutefois, il est certain que son métabolisme demeure étroitement lié à ce tropisme pulmonaire. C'est pourquoi nous en avons entrepris l'étude par la technique d'autoradiographie chez le lièvre, espèce particulièrement sensible à l'action toxique de cet herbicide.

DEUXIEME PARTIE

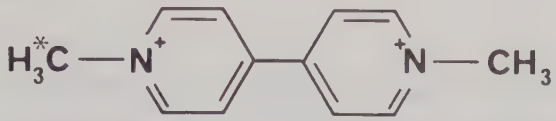
ETUDE EXPERIMENTALE CHEZ LE LIEVRE

1) Protocole expérimental :

1.1) Le produit :

La molécule de paraquat utilisée a été fournie par le centre nucléaire d'Amersham (Grande Bretagne).

Cette molécule est marquée au ^{14} Carbone sur un de ses groupements méthyls :



Son activité spécifique est de 111 $mCi.mM^{-1}$.

Nous avons utilisé une solution à 25 $\mu Ci.ml^{-1}$.

1.2) Les animaux et la posologie :

L'étude autoradiographique a été réalisée sur cinq lièvres communs (Lepus europaeus), auxquels nous avons administré la solution de paraquat-^{14}C per os, et qui furent sacrifiés à des échéances variables (tableau)

n° animal	Sexe	Echéances	Activité massique	Posologie (ml de la solution)
L_1	F	4 H.	$40\mu Ci\text{-}kg^{-1}$	3,18
L_2	F	7 H.	$40\mu Ci\text{-}kg^{-1}$	3,85
L_3	M	24 H.	$40\mu Ci\text{-}kg^{-1}$	2,70
L_4	F	48 H.	$40\mu Ci\text{-}kg^{-1}$	2,97
L_5	M	96 H.	$40\mu Ci\text{-}kg^{-1}$	4,03

1.3) Technique utilisée :

La technique d'autoradiographie macroscopique utilisée est inspirée de celle décrite par S. Ullberg (67).

A l'échéance choisie, le lièvre est sacrifié par administration intraveineuse de pentothal N.D., puis congelé par immersion dans un bain réfrigérant contenant du méthanol et de la glace carbonique. L'animal est alors grossièrement paré : on enlève la fourrure et les quatre membres ; le lièvre est alors inclus dans un bloc de carboxyméthylcellulose sur une platine. Cette platine est fixée sur le chariot d'un microtome (cryotome P.M.V. 450) disposé dans une enceinte dont la température est voisine de -40°C.

Arrivé au lieu anatomique intéressant après plusieurs coupes successives, on passe sur la surface de la coupe un tampon de coton imbibé d'éther de pétrole, afin de supprimer les traces de givrage ; puis immédiatement, on colle sur celle-ci un ruban adhésif d'acétate de cellulose et la coupe est effectuée par translation mécanique de la platine.

La coupe, d'une épaisseur de 20 µm., recueillie sur son support de papier adhésif, est fixée par ses extrémités sur un cadre de bois, et laissée dans l'enceinte réfrigérée pendant une nuit pour obtenir une cryodessication complète.

Les coupes sont alors appliquées sur des films Kodak Kodirex ; elles sont ensuite pressées fortement, à l'abri de la lumière et dans un milieu réfrigéré (+ 4°C) à l'abri de l'humidité.

Au terme de l'exposition (10 mois), les coupes sont délicatement séparées des films. Ces derniers sont révélés dans des conditions bien définies :

- Révélation (20°C) : 3 minutes
- Rinçage : 30 secondes
- Fixation : 30 minutes
- Rinçage : 5 minutes

Ces conditions étant strictement respectées, il est alors possible de comparer les différents clichés obtenus.

Les coupes sont colorées afin de mettre en évidence les structures histologiques. Pour notre travail, nous avons retenu les techniques de coloration suivantes : hémalun-cosine, bleu alcian et coloration de P.A.S. (acide périodique-Schiff), qui sont classiquement utilisées en histologie (25). Nous les avons adaptées à notre matériel (coupe recueillie sur support adhésif).

2) Résultats :

Les résultats obtenus peuvent être présentés en envisageant dans un premier temps la cinétique de la radioactivité dans l'organisme du lièvre, puis en analysant dans une deuxième partie les principales localisations.

2.1) Cinétique de distribution de la radioactivité :

Les données concernant cette cinétique sont colligées dans le tableau n° 2 et les planches photographiques I et II.

Ces différents résultats montrent que seule une faible fraction de la radioactivité administrée

par voie orale est absorbée. En effet, le marquage des contenus digestifs est toujours très intense alors que celui des principaux organes est très faible.

Sur tous les animaux étudiés, on observe que l'activité ^{14}C dans le sang est très basse. Enfin, la cinétique d'incorporation de l'isotope dans les principaux organes semble atteindre son maximum autour de la 7ème heure, échéance pour laquelle le marquage de ceux-ci, à l'exception du système nerveux central, est le plus intense.

2.2) Localisations de la radioactivité :

Une étude fine des autoradiogrammes obtenus permet de constater que des organes fixent de manière préférentielle la radioactivité.

2.2.1) Appareil respiratoire :

On observe que le poumon (planche III, photographies 1 à 5) fixe des quantités importantes de radioactivité pendant quarante huit heures. Sur l'animal sacrifié après 4 jours (planche III, photographie 5), le marquage est nettement moins intense. Dans cet organe, la radioactivité n'est pas distribuée de manière homogène puisque certains lobes pulmonaires sont très marqués alors que d'autres ne fixent que des traces d'isotope.

Une étude plus fine des autoradiogrammes, en particulier de ceux obtenus à partir de l'animal sacrifié après 48 heures (planche IV, photographie 1) montre que l'on observe un marquage intense du pa-

renchyme pulmonaire (lobes diaplnagmatiques) et des bronches extralobulaires (planche IV, photographie 2). L'étude en microscopie photonique a permis de préciser que dans les bronches, seules les cellules épithéliales sont marquées (planche IV, photographies 3 et 4). Une coloration au P.A.S. nous a montré que ces cellules sont P.A.S. positives. Dans le reste du parenchyme (planche V ; photographies 1 à 4), il est difficile de préciser la localisation du marquage compte tenu de son intensité.

La trachée artère fixe elle aussi une forte radioactivité (planche III, photographie 7) ; les cartilages trachéaux sont fortement marqués et nous verrons plus loin la signification de cette observation. De même une forte activité est retrouvée dans la lumière trachéale. Des colorations au P.A.S. et au bleu alcian ont permis de démontrer que ce marquage correspondait à la présence de mucus dans la trachée.

2.2.2) Reins :

Dans ces organes, la radioactivité est surtout localisée en région corticale, quelle que soit l'échéance envisagée (planche VI, photographies 1 à 4). Des études en microscopie photonique confirment la localisation corticale du marquage ; elles permettent en outre de préciser que l'on ne retrouve pas l'isotope dans les glomérules de Malpighi (planche VI, photographies : 5 et 6).

2.2.3) Glandes surrénales :

Ces glandes fixent le carbone 14 à partir de la 7ème heure ; leur marquage est maximal entre la 24ème et la 48ème heure. Une étude fine de l'autoradiogramme (planche VII, photographie 1) semble indiquer qu'il s'agit d'une fixation sur la partie médullaire des glandes. Cela est corroboré par l'examen microscopique (planche VII, photographies 2 et 3).

2.2.4) Structures cartilagineuses :

Elles fixent l'isotope dès la 4ème heure après l'administration. Ce sont surtout les cartilages du larynx, de la trachée artère, des sternèbres et du pavillon auditif qui sont marqués. En ce qui concerne les disques intervertébraux, l'essentiel de la radioactivité est fixé sur le nucleus pulposus (planche VII, photographies 4 et 5). Dans les cartilages intervertébraux, de faibles activités sont présentes ; il en est de même pour les cartilages articulaires.

2.2.5) Oeil et annexes :

Ces organes sont faiblement marqués dans les premières échéances. Par contre, dès la 24ème heure, on observe une fixation de l'isotope à l'intérieur des paupières et de certains territoires histologiques de l'oeil (planche VIII, photographies 1 et 2). L'étude en microscopie photonique permet de mieux préciser la localisation dans ces tissus (planche VIII, photographies 3 et 4). Dans la

paupière, seuls sont marqués les mélanocytes (planche VIII, photographies 5 et 6) ; dans l'oeil, la radioactivité est confinée au seul épithélium pigmentaire (planche VIII, photographies 7 et 8).

2.2.6) Cerveau :

Le marquage cérébral s'observe à partir de la 24ème heure ; il est retrouvé sur l'animal sacrifié 48 heures après l'administration du paraquat. Dans cet organe, l'isotope est principalement mis en évidence dans le bulbe olfactif, l'hémisphère cérébral (cortex), les corps calleux, le cervelet (planche IX, photographie 1)

2.2.7) Tube digestif et annexes :

Dans la cavité buccale, une radioactivité importante est détectée sur les muqueuses linguale et palatine (planche X, photographie 1). Pour la muqueuse linguale, le marquage le plus intense est retrouvé dans la zone de la pointe et du corps de la langue (planche X, photographies 2 à 5) ; la muqueuse de la partie basale de cet organe est faiblement marquée (planche X, photographies 6 et 7). En ce qui concerne la muqueuse palatine, son marquage est intense et uniforme. Ces différentes zones de radioactivité correspondent à des cellules qui sont colorées par la méthode au P.A.S.

On ne retrouve aucun marquage sur les différentes glandes salivaires (planche X, photographies 6 et 7). Par contre, la muqueuse gastrique fixe des activités importantes(planche IX, photographie 5).

Le foie, quant à lui, présente une faible radioactivité ; la distribution de l'isotope y est homogène dans son parenchyme. Il est intéressant de noter que la bile est assez nettement marquée (planche IX, photographies 2 et 3).

3) Discussion :

Dans cette partie, nous envisagerons l'étude du métabolisme du paraquat à la lumière des résultats obtenus par l'expérimentation et en les confrontant à ceux décrits dans la littérature.

3.1) Absorption :

Chez le lièvre adulte, ayant reçu par voie orale du paraquat marqué au carbone 14, les résultats obtenus montrent que l'absorption par le tube digestif de la radioactivité est assez faible. Cette observation faite chez le lièvre, a déjà été rapportée par divers auteurs pour d'autres espèces. Ainsi Murray et Gibson (50) ont montré que chez le rat, le cobaye et le singe, seule 17% de la radioactivité administrée est absorbée ; ces données sont confirmées par Litchfield et coll.(41) chez le rat. Chez l'homme, la fraction absorbée est nettement plus faible ; ainsi, selon Dasta (17) elle ne serait que de 5% de la dose ingérée.

Cette faible absorption se traduit sur les autoradiogrammes obtenus, par une activité très intense dans la lumière du tube digestif et par un faible marquage des différents organes.

3.2) Distribution :

Bien que l'absorption soit faible, on trouve de la radioactivité dans l'ensemble de l'organisme ; cela a déjà été montré chez le rat par Litchfield et al (41), et Waddel et Marlowe (72) par autoradiographie macroscopique. Par rapport à ces auteurs, nous avons pu préciser un certain nombre de points.

Dans le poumon, nous notons que l'augmentation de radioactivité est assez rapide ; ainsi, dès la 4ème heure après l'administration, on trouve un très fort marquage du parenchyme pulmonaire. Cela ne semble pas être en relation avec une biotransformation du paraquat et une élimination de $^{14}CO_2$. En effet, ce marquage est très persistant ; de plus, il a été montré chez le rat (48) qu'il n'y avait aucune élimination de radioactivité dans l'air exhalé.

Par autohistoradiographie en microscopie photonique chez la souris, Waddel et Marlowe (72) ont montré que la radioactivité était essentiellement localisée dans un seul type de cellules alvéolaires dont la distribution histologique correspond à celle des pneumocytes de type II.

Dans cet organe, nous avons noté un marquage assez important et persistant dans les bronches. Ce marquage particulier permet d'expliquer celui que nous avons mis en évidence par histochimie dans la trachée artère et qui correspond au mucus. Ainsi, une fraction de paraquat ou de ses métabolites serait éliminé dans le mucus bronchique.

Nous avons vu précédemment dans notre expérimentation chez le lièvre que le paraquat était fixé par le rein et que dans cet organe, le marquage était essentiellement cortical. Les glomérules n'étant pas marqués, on peut conclure à une fixation tubulaire de l'isotope. Cette observation a déjà été rapportée chez d'autres espèces, telle la souris (72) et le rat (41). Cette accumulation, qui permet selon certains auteurs, d'atteindre des concentrations assez élevées, est à l'origine de la néphnotoxicité du paraquat.

Une fixation tout aussi intéressante à considérer, est celle que l'on a mis en évidence dans la mélanine et les structures cartilagineuses. Elle a déjà été rapportée chez les rongeurs par Larsson et coll. (36,37) in vivo. Cet auteur a par ailleurs montré par des études in vitro que le paraquat présente une haute affinité pour la mélanine de boeuf (38), et que son incorporation peut être inhibée par introduction dans le milieu de divers cations surtout divalents. Cela lui permet de conclure à une liaison de type ionique se traduisant par une interaction avec les résidus carboxyliques qui seraient présents, en grande quantité, dans la mélanine.

Un autre marquage mélanique doit être noté : c'est celui du tégument, où les mélanocytes sont nombreux.

Il est enfin intéressant de mentionner que la médullosurrénale est aussi fortement marquée comme nous venons de le montrer ; or, la partie médullaire de la glande surrénale a, sur le plan embryologique, la même

origine que la mélanine (37). De plus, elle est sur le plan biochimique, responsable de la biosynthèse des catécholamines, qui sont à l'origine de la production des pigments mélaniques.

A l'heure actuelle, parmi les différentes hypothèses énoncées pour expliquer l'affinité mélanique des xénobiotiques, celle faisant état d'un transfert de charge semble la plus vraisemblable ; elle ne repose cependant que sur une hypothèse en ce qui concerne la structure de la mélanine et des démonstrations d'affinité réalisées in vitro. Cette hypothèse de transfert de charge est par ailleurs consolidée par l'affinité du paraquat pour certaines structures cartilagineuses (trachée, sternum, conche auriculaire, disque intervertébral). Toutes ces structures anatomiques sont riches en mucopolysaccharides en général acides, renfermant en particulier des chondroïtines sulfates avec lesquelles peuvent s'effectuer ces échanges de type ionique.

L'ensemble de ces résultats montre une affinité du paraquat pour les cellules renfermant des mucopolysaccharides ; cela permet donc d'expliquer le marquage de la muqueuse linguale. Celui-ci ne peut pas être interprété par une élimination salivaire du produit puisque nous ne l'avons pas relevé. Il est donc la conséquence de l'incorporation de la molécule de paraquat dans les mucopolysaccharides présents dans les cellules épithéliales de cet organe (cellules P.A.S. positives).

Enfin, nous avons noté un marquage dans le système nerveux central. Celui-ci semble débuter vers la 7ème heure. Sur l'animal sacrifié après 24 heures, le cerveau présente une activité homogène, le bulbe olfactif étant cependant plus marqué. C'est surtout sur l'animal sacrifié 48 heures après administration, que l'activité détectée dans cet organe est la plus élevée ; elle est presque exclusivement localisée au cortex cérébral. Ainsi, contrairement à ce qu'avancent Rose et Smith (57) pour le rat, l'effet de la barrière hémato-méningée ne semble pas s'opposer chez le lièvre au passage du paraquat dans le système nerveux central. Waddel et Marlowe (72), qui ont noté un faible passage de la radioactivité dans l'encéphale de souris, rapportent une fixation dans les plexus choroïdes. Dans notre étude, nous n'avons relevé aucune fixation sur ces structures, mais par contre on peut noter une accumulation dans les corps calleux.

3.3) Elimination :

La conséquence de la faible absorption de la radioactivité est une élimination intense qui s'effectue surtout par voie fécale.

L'élimination fécale est très importante et dure au moins quatre jours. Cette observation a aussi été rapportée pour d'autres espèces : homme (17), rat et souris (41), souris (72). Il est intéressant de noter qu'une partie de la radioactivoté ainsi excrêtée est la conséquence d'une élimi-

nation biliaire qui débute entre la 4ème et la 7ème heure après l'administration du produit, et qui dure au moins 48 heures.

En ce qui concerne l'élimination rénale, elle est également importante et dure au moins 4 jours.

L'étude entreprise par autoradiographie macroscopique chez le lièvre, démontre que le métabolisme du paraquat est chez celui-ci semblable à celui décrit par ailleurs dans d'autres espèces animales. Ces résultats confirment les particularités de la répartition in vivo déjà signalées ; ils apportent de plus des précisions qu'il est intéressant de confronter avec la pathogénie de l'intoxication par l'herbicide. En effet, bien souvent, les effets toxiques observés ont été rattachés à la fixation spécifique du composé dans des structures biologiques précises ; ces corrélations métabolisme-toxicité feront l'objet de notre troisième partie.

TROISIEME PARTIE

RELATIONS ENTRE METABOLISME ET TOXICITE

Notre étude expérimentale et sa confrontation avec les résultats déjà publiés confirme l'importance de la fixation sur l'appareil pulmonaire, qui se traduit en clinique par la prédominance des troubles respiratoires. Cet aspect sera envisagé en premier. Par contre, peu d'auteurs ont établi une corrélation entre la fixation spécifique du paraquat dans d'autres territoires que pulmonaire et sa toxicité ; c'est ce que nous essaierons de faire dans un deuxième temps.

1) Métabolisme et toxicité pulmonaire du paraquat

1.1) Fixation pulmonaire

On a fait jusqu'ici état d'une affinité transitoire du paraquat pour le poumon, qui, dans son modèle actuel, rend compte de la dégénérescence des pneumocytes observée dans la première phase de destruction. Ce schéma général est confirmé, mais la persistance du composé dans le tissu pulmonaire semble beaucoup plus longue que les études antérieures ne l'ont mentionné (en effet, selon Litchfield et al (41), toute trace de radioactivité dans le poumon a disparu en 72 heures).

Cette observation renforce l'idée d'une corrélation entre la fixation préférentielle du paraquat et son effet toxique. Cette fixation pourrait provenir soit d'un mécanisme de concentration particulier dans certaines cellules, soit d'une liaison très forte avec les constituants cellulaires. Il semble que l'hypothèse d'une liaison covalente soit à écarter. En effet, l'incubation de coupes

de poumon de rat avec du paraquat radioactif conduit à une fixation de la radioactivité sur les protéines précipitables (32) ; mais Rose et Smith (58) ont rapporté que le paraquat ne se lie pas de façon irréversible quel que soit le type de molécule envisagé, et ils en concluent que l'accumulation et la rétention de l'herbicide par le poumon n'est à rattacher à un quelconque phénomène de liaison.

D'autre part, toutes les biotransformations sont associées à des phénomènes d'oxydo-réduction en rapport avec la formation de radicaux libres, de péroxydation lipidique ou d'interférence avec le système NADPH/$NADP^+$, mais pas avec la fixation covalente directe d'un métabolisme à des constituants intracellulaires.

Par contre, l'accumulation spécifique du paraquat dans certaines cellules pulmonaires rejoint les modes d'action biochimiques proposés du composé. On peut notamment souligner dès maintenant l'affinité de ce dipyridylium pour les cellules à mucus que nous avons mise en évidence et les théories les plus récentes, qui mettent en jeu les propriétés spécifiques de ces cellules.

1.2) *Mécanisme d'action*

Les symptômes et lésions pulmonaires provoqués par le paraquat dans toutes les espèces animales ont conduit à la recherche approfondie de son mode d'action ; deux mécanismes principaux ont été proposés : lésion toxique par péroxydation des lipides membranaires, contesté à l'heure actuelle, ou inhibition

de la synthèse des phospholipides constitutifs des membranes cellulaires, en faveur présentement.

1.2.1) Péroxydation des lipides :

Bus et Coll (9) proposèrent en 1975 un mécanisme d'action selon lequel le paraquat, composé oxydant in vivo, entraine la destruction des cellules par péroxydation des lipides membranaires.

Divers arguments expérimentaux appuient cette théorie, qui peut être schématisée simplement (Fig.1)
- Le paraquat peut être réduit in vivo ; l'incubation de celui-ci en présence de NADPH et de microsomes pulmonaires de souris conduit à l'obtention d'une forme réduite (de couleur bleue) du composé (9).
- Le paraquat stimule la synthèse des ions superoxydes (O_2^-) et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), deux oxydants puissants qui sont normalement "neutralisés" dans la cellule selon le mécanisme suivant (47) :

$$O_2^- \xrightarrow[+H^+]{\text{superoxyde dismutase}} H_2O_2 + O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} H_2O$$

Or l'activité de la superoxyde dismutase pulmonaire est très inférieure à celle qui peut être mise en évidence dans le foie et le rein. Cette déficience constitutive pourrait expliquer la spécificité de l'action toxique observée.

De plus, chez le rat in vivo, l'administration de superoxyde dismutase retarde l'effet létal du paraquat (4,5)

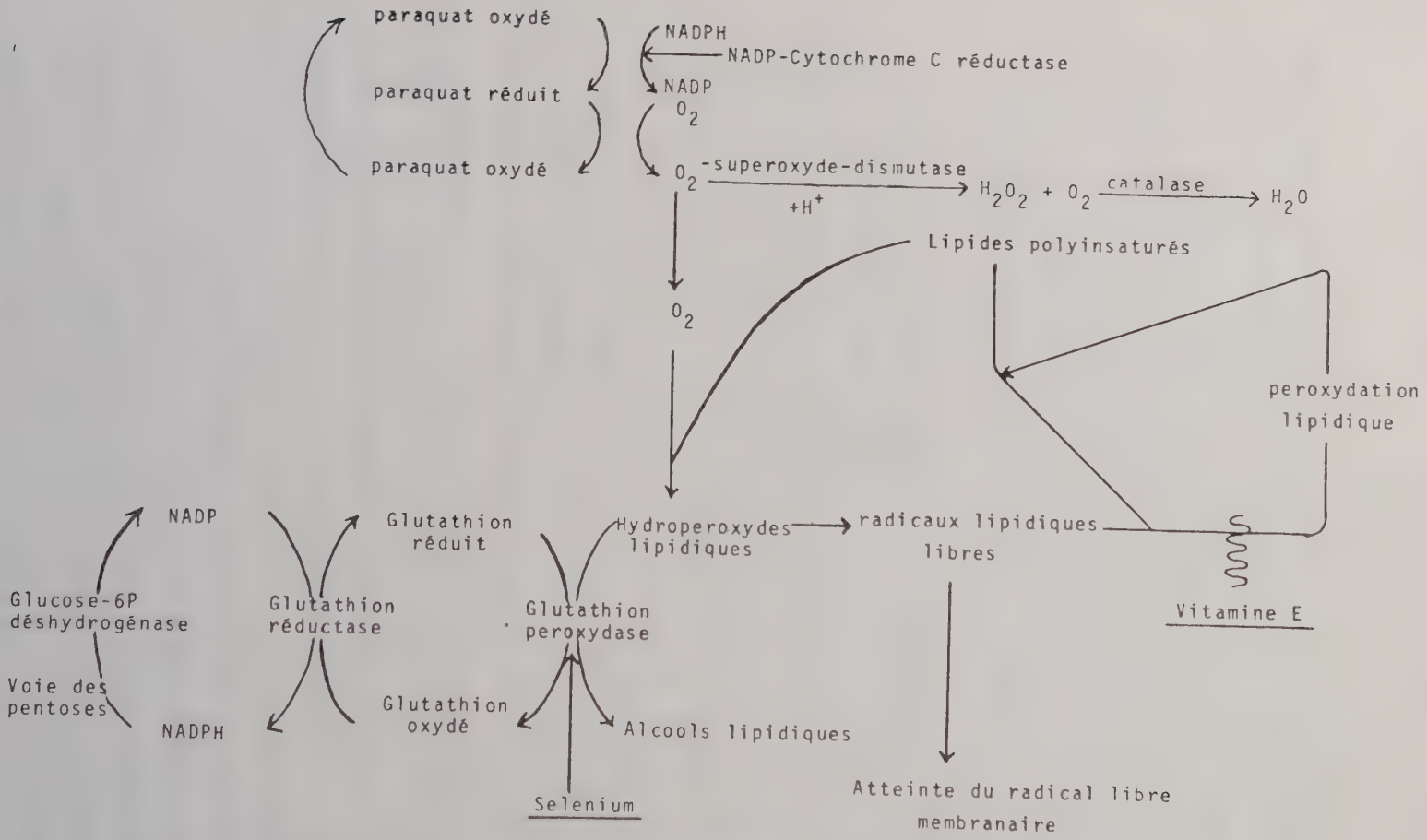


Figure n° 1 D'après Bus (J.S.), Aust (S.D.), Gibson (J.E.) (9)
"Lipid peroxidation : A possible mechanism for paraquat toxicity"

Donc la réduction in vivo du paraquat fait apparaître un radical libre qui a la capacité de transformer l'oxygène moléculaire en ion superoxyde. En présence d'une faible activité en superoxyde dismutase et d'une forte concentration en oxygène moléculaire, conditions particulièrement réalisées dans le poumon, les acides gras insaturés membranaires sont peroxydés et la structure cellulaire désorganisée. En accord avec cette théorie, la déficience en sélinium ou vitamine E, antioxydants protecteurs des lipides membranaires (figure n° 1), accroît la toxicité du paraquat chez la souris et le rat (9, 54,8).

D'autres arguments, par contre, ne permettent pas d'adhérer entièrement au mécanisme proposé par Bus :

- La toxicité du paraquat reste inchangée chez des souris préalablement traitées par la N,N'-diphényl -p- phénylène diamine ; or ce composé prévient la péroxydation des lipides (61).
- Aucune preuve directe ou indirecte n'étaye l'augmentation des peroxydes lipidiques cellulaires sous l'influence du paraquat ; le taux de diènes conjugués reste constant (61), la concentration en acides gras polyinsaturés, donc peroxydables, également (35) (à l'exception du palmitate) ; la teneur en vitamine E ne varie pas non plus.
- Le diquat, qui est beaucoup moins toxique pour le poumon que le paraquat, stimule pourtant davantage la peroxydation lipidique in vitro (65).

Pour ces diverses raisons, d'autres intéractions ont été mises en cause, notamment l'inhibition de la biosynthèse des lipides.

1.2.2) Inhibition de la biosynthèse lipidique

Parmi les effets biochimiques du paraquat, la déplétion cellulaire en NADPH et en acide palmitique a été particulièrement notée. Selon cependant les conditions expérimentales, la réduction du composé par la cytochrome c réductase en présence de NADPH et d'oxygène moléculaire O_2 semble ne pas avoir les mêmes conséquences. C'est ainsi que Steffen (64), dans des conditions plus proches de celles existant in vivo, démontre que l'oxygène moléculaire consommé pendant la réaction se transforme en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et non en ion superoxyde O_2^-.

$$2\ NADPH + 2H^+ + 2O_2 \xrightarrow{paraquat} 2\ NADP^+ + 2H_2O_2$$

$$2H_2O + O_2 \xleftarrow{catalase} 2H_2O_2$$

$$\text{d'où } 2NADPH + 2H^+ + O_2 \xrightarrow{\text{Paraquat, catalase}} 2NADP^+ + 2H_2O$$

Certains auteurs, tels Steffen, pensent que, suite à la déplétion cellulaire en NADPH, la biosynthèse des acides gras est inhibée et la formation de surfactant pulmonaire, (qui est une lipoprotéine riche en phospholipides) entravée ; de plus, Rose et coll. (57) ont montré in vitro que la putrescine, composé empêchant le transport actif du paraquat dans le poumon, prévient l'effet inhibiteur du dipyridylium sur la

synthèse des acides gras. Or toute déficience en surfactant expose les cellules alvéolaires aux oxydants inhalés, et entraine une dégénérescence de ces cellules. Lors d'intoxication aigüe, l'altération du surfactant a d'ailleurs été mise en évidence depuis longtemps (45).

De façon plus précise, la paraquat entrerait en compétition avec la choline et bloquerait la synthèse de la phosphatidylcholine, constituant majeur du surfactant. Cette proposition de compétition entre deux ammoniums quaternaires est séduisante et la déplétion pulmonaire en phosphatidylcholine a été récemment démontrée in vivo (22).

Cette hypothèse a par ailleurs le mérite d'établir de bonnes corrélations entre la toxicité spécifique du paraquat et son métabolisme. Waddel et Marlowe (72) ont notamment démontré par autohistoradiographie la persistance préférentielle du paraquat dans certaines cellules alvéolaires, dont la localisation semble analogue à celle des pneumocytes de type II. Or ces cellules sont celles qui réalisent la synthèse du surfactant pulmonaire et accumulent pour celle-ci la choline par transfert membranaire actif (14). Nos résultats démontrant la présence de paraquat dans plusieurs types de cellules à mucus, sont en faveur d'une relation étroite entre la toxicité de ce composé et l'activité secrétoire de certaines cellules.

2) Autres localisations tissulaires et toxicité:

Outre le poumon, plusieurs autres localisations du paraquat peuvent être reliées aux troubles observés lors d'intoxication. A ce titre, on peut remarquer :

- La nécrose tubulaire proximale observée dans le rein et la concentration particulière du composé en zone corticale. L'interférence métabolique exacte du paraquat dans les cellules rénales n'est pas connue. In vivo, le composé n'entre pas en compétition avec les systèmes de transfert actif des substances basiques ; de même, il ne stimule pas la voie des pentoses et n'inhibe pas la synthèse des acides gras (42).

Malgré toutes les inconnues, il n'en demeure pas moins vrai que le paraquat se concentre dans les cellules tubulaires et que du point de vue clinique l'insuffisance rénale aigüe est un problème important. Cette accumulation et cette toxicité ont peut-être un rapport avec la nature cationique du composé ; il est en effet intéressant de noter que d'autres substances de ce type, tels les antibiotiques aminosidiques, se concentrent dans le rein et sont néphrotoxiques.

- L'imprégnation hépatique et les phénomènes de nécrose et ictère observés

Bien que le mode d'action toxique ne soit pas élucidé ici non plus, il faut à l'échelle cellulaire dissocier la nécrose périportale observée du fait que le paraquat se fixe de façon uniforme dans le foie.

- La pénétration intracérébrale et les troubles nerveux

décrits chez l'homme et les ruminants.

Ce rapprochement n'a pas été confirmé jusqu'ici de façon précise, mais cette fixation dans le système nerveux central coïncide avec des manifestations cliniques importantes.

Certaines corrélations sont, elles, plus difficiles à établir ou n'existent pas :

- C'est le cas pour la fixation sur la muqueuse buccale et la stomatite observée, qui semblerait plutôt dûe à l'action corrosive du produit.

Cependant, il faut souligner l'importance des lésions observées dans la cavité buccale, alors que peu d'auteurs font état d'une atteinte de l'oesophage. De plus, la concentration du paraquat semble s'effectuer dans les cellules à mucus et on ne note pas la présence du composé dans les glandes salivaires, éliminant ainsi toute possibilité d'excrétion du produit dans la salive.

- Cela est vrai également pour l'affinité que présente l'herbicide pour certains organes, sans répercussion fonctionnelle : ainsi, la fixation à la mélanine oculaire qui ne peut entrainer une cataracte, comme celle décrite dans le cas d'intoxication par le diquat ; de même en ce qui concerne les glandes surrénales, où la concentration est médullaire alors que les lésions provoquées sont localisées dans la zone glomérulée de la corticale. C'est bien là encore le cas d'une affinité particulière du composé sans conséquence du moins connue à l'heure actuelle.

CONCLUSION

Cette étude nous a permis d'envisager la toxicologie du paraquat sous divers aspects. D'un point de vue tout d'abord clinique, l'intoxication aigüe par cet herbicide reste, en raison de sa gravité, un problème préoccupant chez l'homme ; chez les animaux domestiques, ces intoxications paraissent rares et cliniquement polymorphes. Malgré cela, le paraquat provoque dans toutes les espèces une fibrose pulmonaire proliférative.

Cette spécificité d'action nous a conduit par ailleurs à étudier expérimentalement le métabolisme du paraquat dans une espèce animale particulièrement sensible : le lièvre. Nous avons pu ainsi, par autoradiographie macroscopique, préciser la distribution du composé, confirmer sa forte affinité pulmonaire et apporter des éléments nouveaux concernant sa localisation.

Les relations enfin que nous avons établies entre les données toxicologiques et les informations métaboliques, nous ont permis de voir que le mécanisme d'action du paraquat est encore inconnu. Les recherches en ce sens sont importantes, non seulement sur le plan fondamental, mais aussi sur le plan pratique pour le traitement des intoxications.

ANNEXE

ECHEANCE	4H	7H	24H	48H	96H
Encéphale	0	(+)	+(+)	++(+)	(+)
Moelle épinière	0	(+)	+(+)	++(+)	(+)
Sang	(+)	0	0	0	0
Muscle cardiaque	++	++(+)	++	++	(+)
Poumons	+++++	+++++	+++++	+++++	++(+)
Glandes salivaires	(+)	++	++	(+)	0
Contenu gastrique	++++	+++	+++	++	0
Contenu intestinal	+++++	++++	++++	+++	+++
Paroi intestinale	++	++(+)	++(+)	++	(+)
Contenu coecal	+++++	+++++	++++(+)	++(+)	++(+)
Foie	+(+)	++	++	++	(+)
Muscles	(+)	(+)	+	+	0
Parenchyme rénal	++++	+++	+++	++(+)	(+)
Bassinet du rein	++	+++	+++	0	0
Vessie	++++	+++++	+++++	+++++	+++
Cartilages	+++	+++(+)	++++(+)	++(+)	0
Tégument et poils	+	++(+)	+++	++++	+
Surrénales	0	++	+++	+++	0
Thyroïdes	0	+++	++	0	0
Mélanine oculaire	++	++	+++++	++++	(+)
Globe oculaire	0	0	0	0	0
Etui osseux	(+)	+	+(+)	+	0
Moelle osseuse	(+)	+	+(+)	+	0
Pancréas	(+)	(+)	0	0	0
Vésicule biliaire	++	++(+)	+++	(+)	0
Dents	(+)	+++	+++	++++	0

Tableau n° 2 : Tableau densitométrique

PLANCHES PHOTOGRAPHIQUES

LEGENDE DES PLANCHES PHOTOGRAPHIQUES

1 : Encéphale
2 : Moelle épinière
3 : Foie
4 : Muscle cardiaque
5 : Sang
6 : Trachée artère
7 : Poumon
8 : Thymus
9 : Tégument
10 : Contenu stomacal
11 : Contenu intestinal
12 : Contenu coecal
13 : Vertèbres lombaires
14 : Aorte abdominale
15 : Veine cave postérieure
16 : Muscle
17 : Muscles linguaux
18 : Sternum
19 : Cartilage intersternébral
20 : Disque intervertébral
21 : Muqueuse linguale
22 : Bronches
23 : Vésicule biliaire
24 : Larynx
25 : Vertèbres thoraciques
26 : Vessie
27 : Contenu rectal

PLANCHE I

Autoradiogrammes de lièvres ayant reçu par voie orale du paraquat - ^{14}C

a) Animal sacrifié 7 heures après administration

b) Animal sacrifié 24 heures après administratio

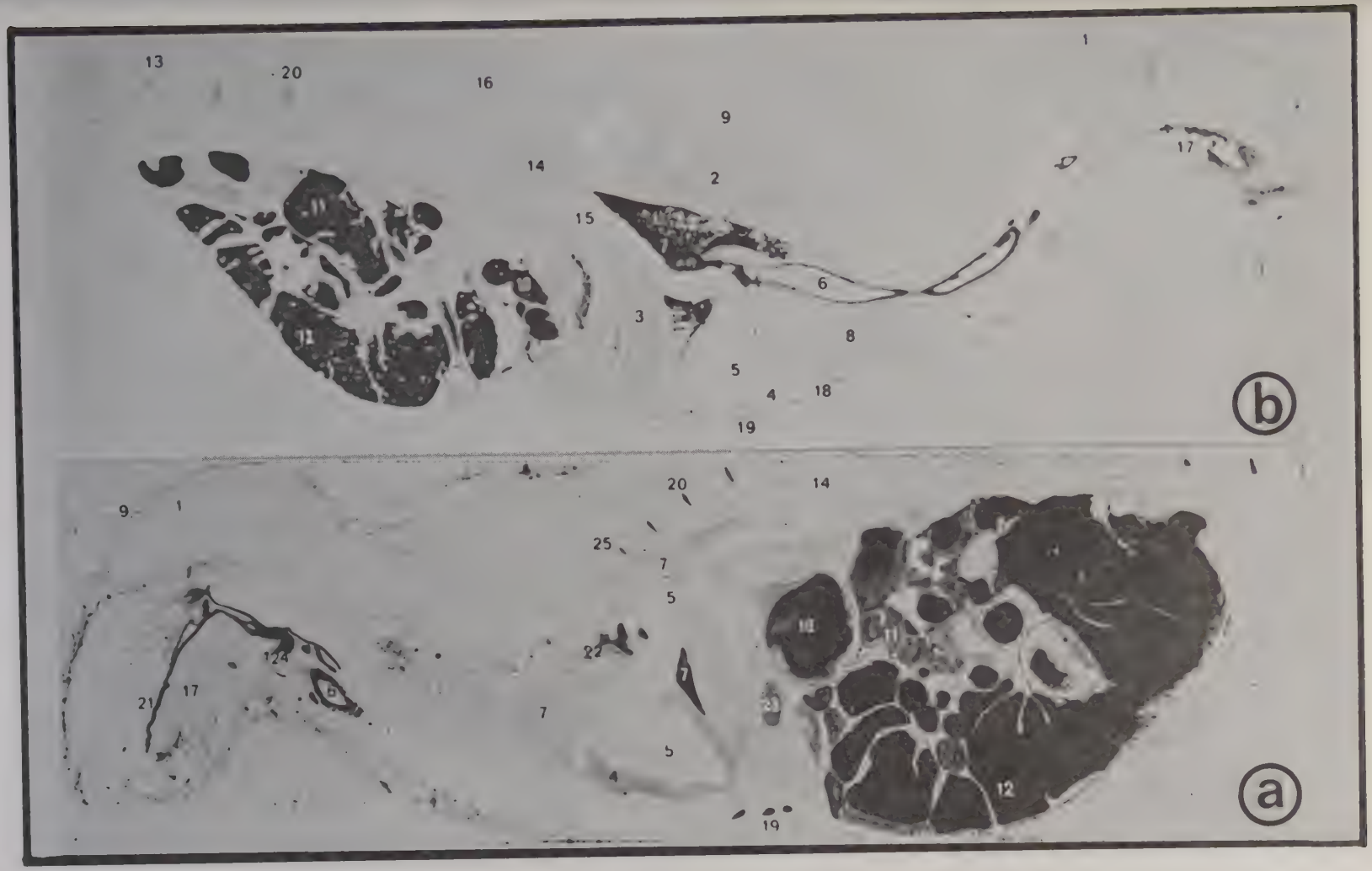

13
20
16
1
9
14
2
17
15
6
3
8
5
4
18
19
b
20
14
9
1
25
7
5
22
7
21
17
7
5
4
19
12
a

PLANCHE II

Autoradiogrammes de lièvres ayant reçu par voie orale du paraquat - ^{14}C

c) Animal sacrifié 48 heures après administrati

d) Animal sacrifié 96 heures après administrati

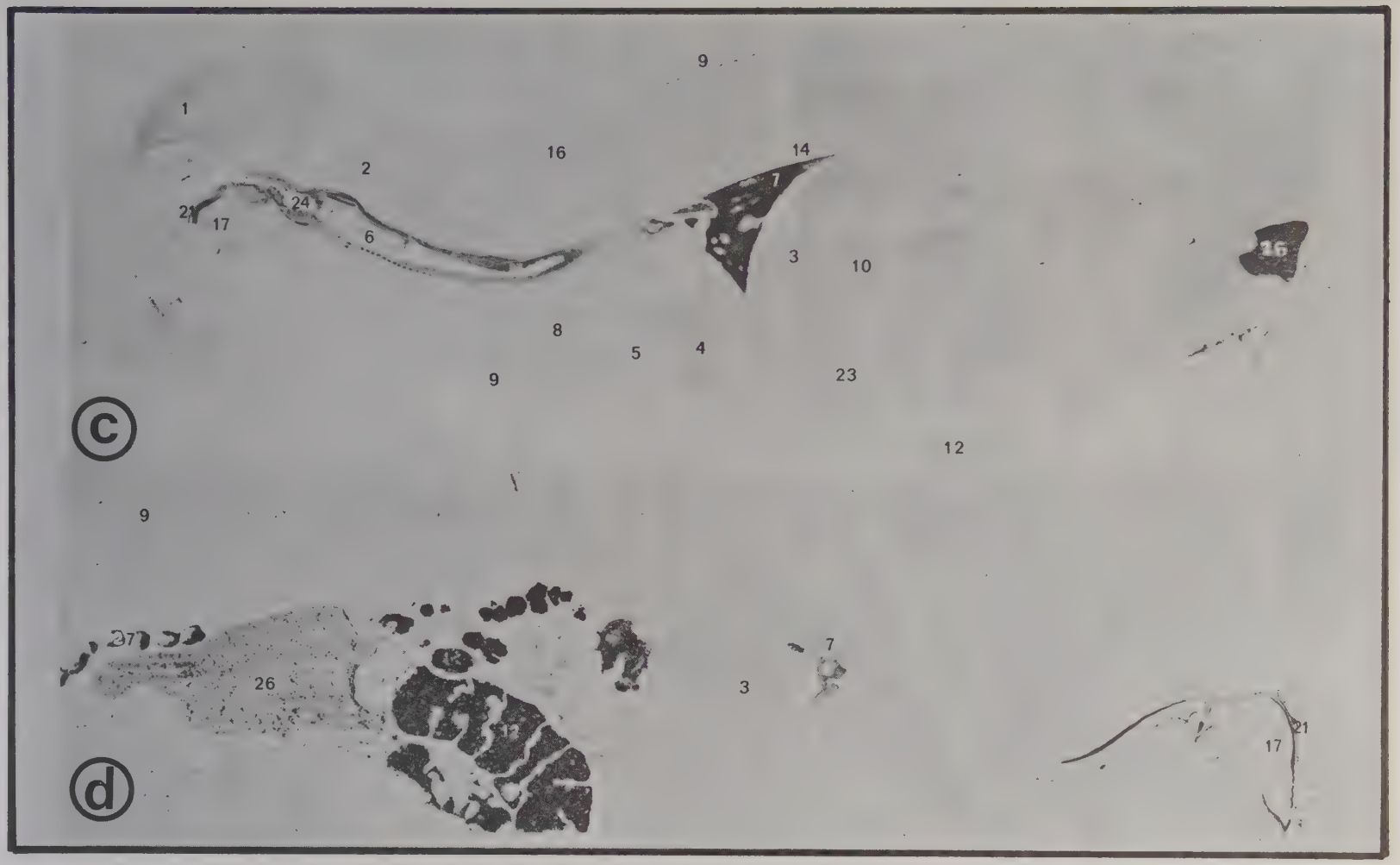

9
1
16
14
2
7
21
24
17
6
3
10
16
8
5
4
9
23
c
12
9
27
26
7
3
21
17
d

PLANCHE III

Fixation du paraquat sur l'appareil pulmonaire

1 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 4 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le poumon.

2 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 7 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le poumon.

3 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 24 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le poumon.

4 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 48 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le poumon.

5 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 96 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le poumon.

Fixation du paraquat -^{14}C sur la trachée artère

6 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 4 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur la trachée artère (I:cartilage ;2:mucus 3:disque intervertébral ; 4 : vertèbre)

7 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 7 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur la trachée artère (5:oesophage;6:sang; 7:moelle épinière).

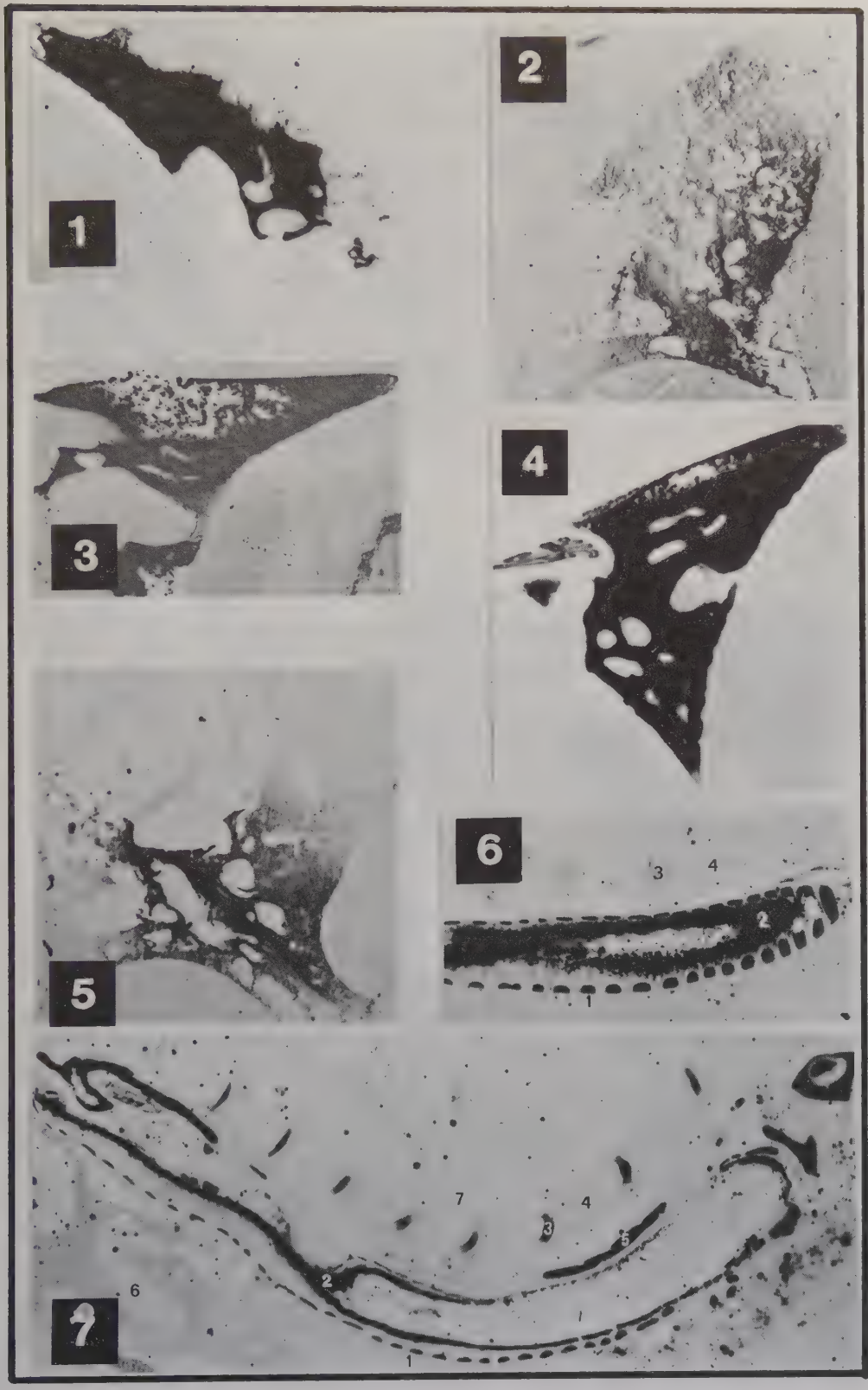

1
2
3
4
5
6
3
4
2
1
7
4
3
5
2
6
1

PLANCHE IV

Fixation du paraquat-^{14}C sur l'appareil pulmonaire

I : Détail du poumon de l'animal sacrifié 48 heures après administration par voie orale de paraquat -^{14}C (1 : sang ; 2 : parenchyme pulmonaire ; 3 : bronche).

2 : Détail de la fixation bronchique (agrandissement de l'encadré de la photographie n° 1)

Etude en microscopie photonique de la fixation bronchique (zone 1)

3 : Coupe histologique (X 20)

4 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

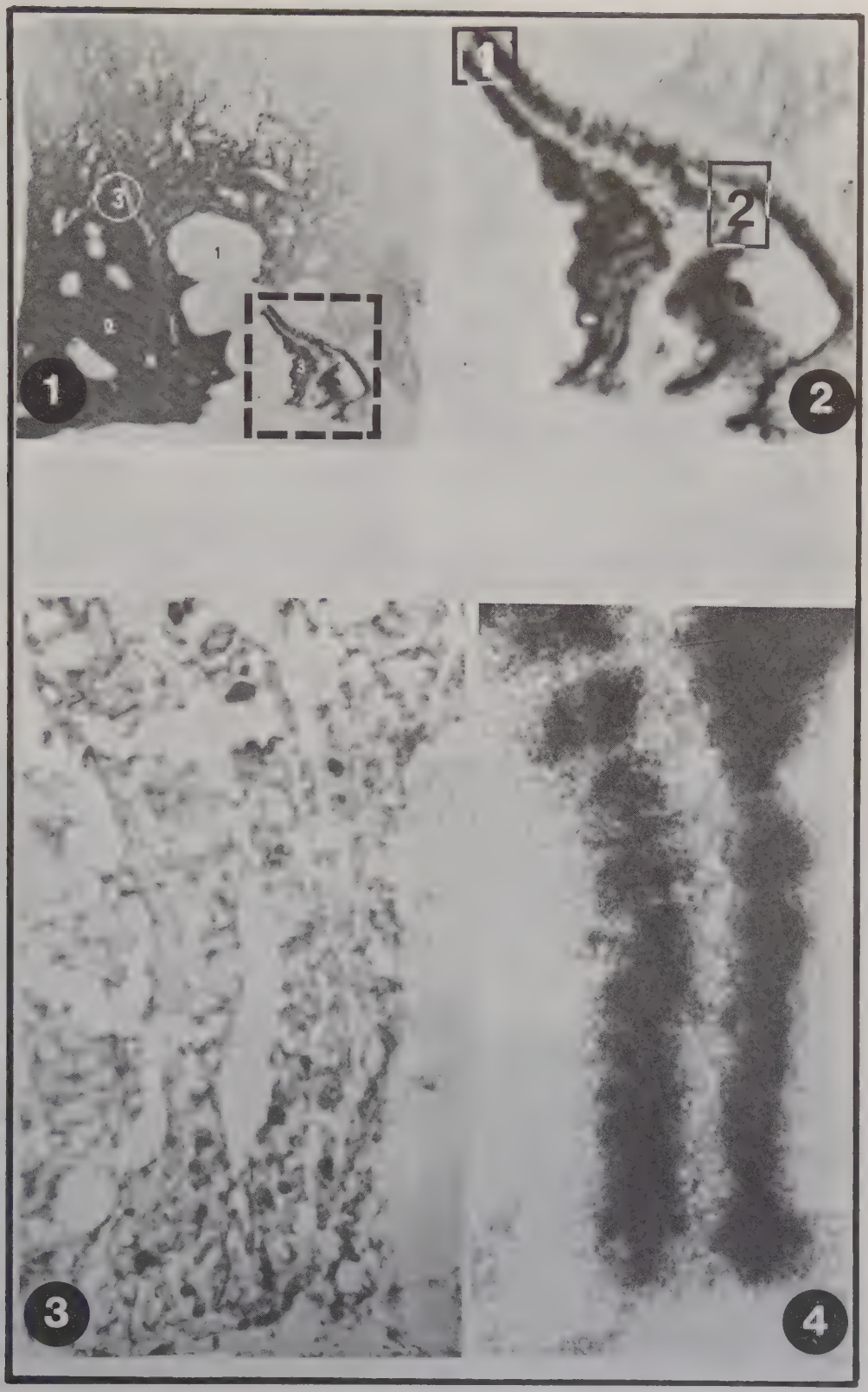

1
2
3
1
2
1
2
3
4

PLANCHE V

Fixation sur l'appareil pulmonaire

Etude en microscopie photonique de la fixation bronchique (zone 2)

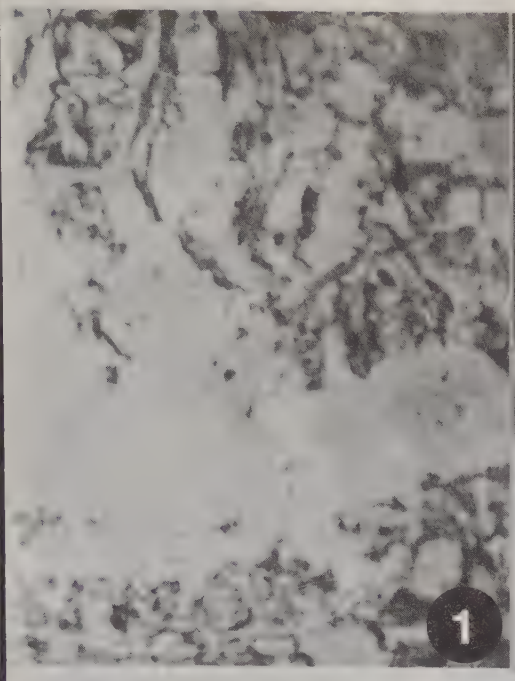
1 : Coupe histologique (X 20)

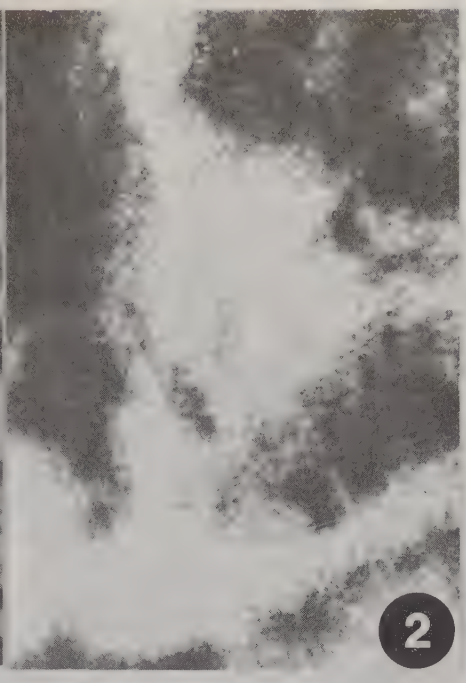
2 : Autoradiogramme correspondant (X 20).

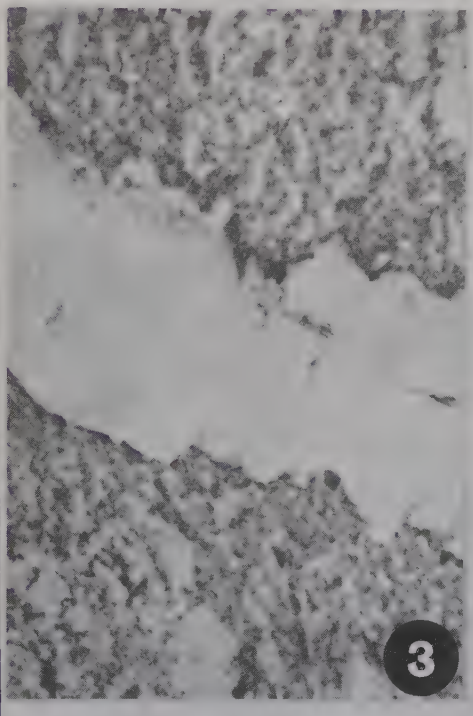
Etude en microscopie photonique de la fixation pulmonaire (zone 3)

3 : Coupe histologique (X 20)

4 : Autoradiogramme correspondant (X 20)


1


2


3

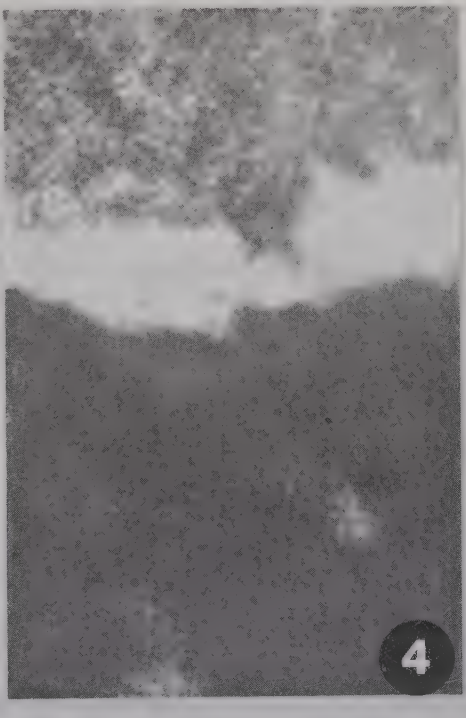

4

PLANCHE VI

Fixation du paraquat -^{14}C sur les reins

1 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 4 heures après administration de paraquat -^{14}C , mettant en évidence la fixation sur le rein.

2 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 7 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le rein.

3 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 24 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le rein.

4 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu sur l'animal sacrifié 48 heures après administration de paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur le rein.

Etude en microscopie photonique de la fixation rénale sur l'animal sacrifié 48 heures après administration de paraquat -^{14}C par voie orale

5 : Coupe histologique (X 20) (c : zone corticale m : zone médullaire ; 1 : glomérule de Malpighi; 2 : vaisseau sanguin).

6 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

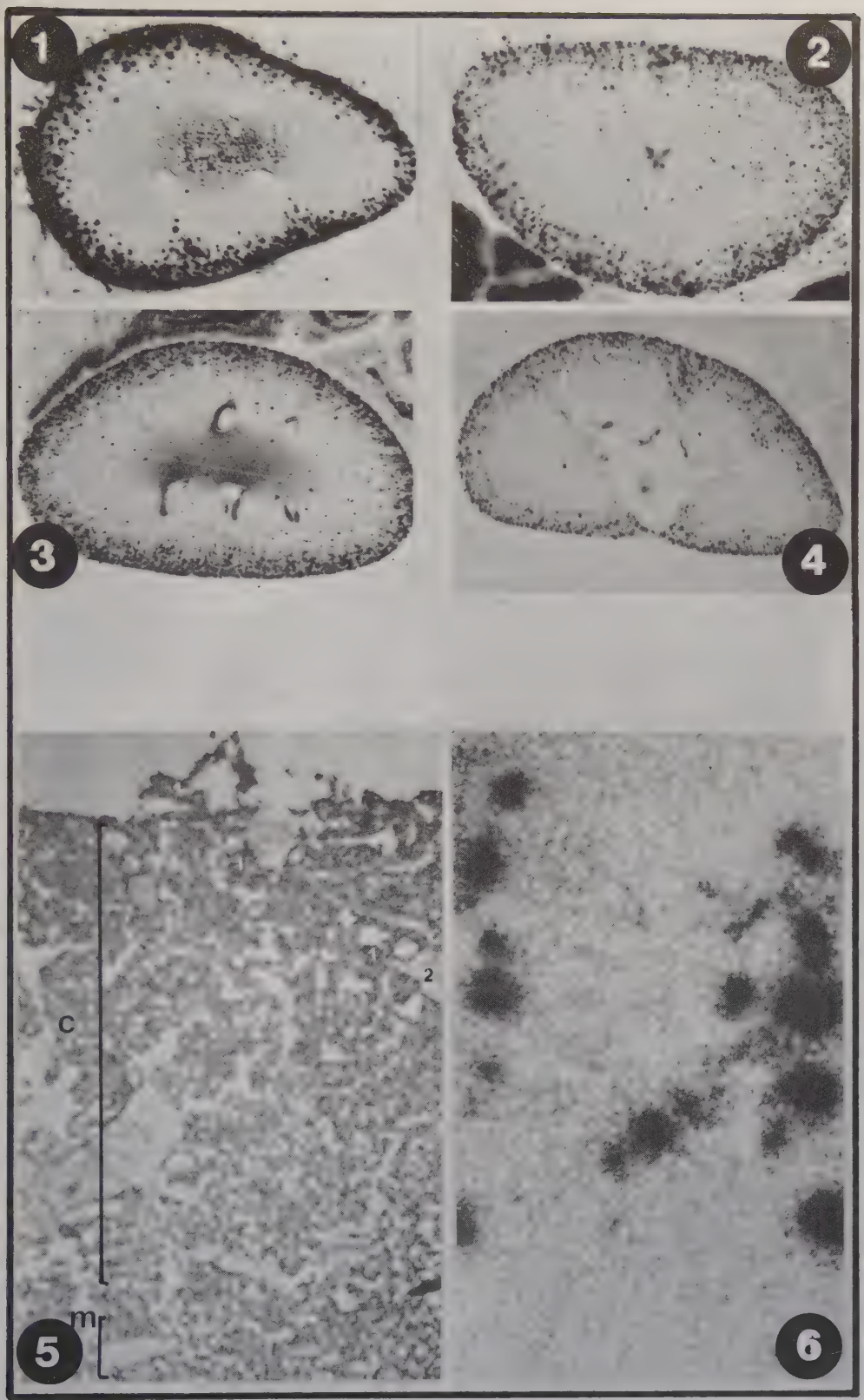

1
2
3
4
C
m
5
6

PLANCHE VII

1 : Fixation du paraquat -^{14}C sur la glande surrénale:

Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 48 heures après l'administration du produit (a : corticosurrénale ; b : médullosurrénale ; c : veine centromédullaire).

Etude en microscopie photonique de la fixation du paraquat -^{14}C sur la glande surrénale :

2 : Coupe histologique (X 20)

3 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

Fixation du paraquat -^{14}C sur les cartilages intervertébraux

4 : Coupe histologique (X 20) (1 : corps vertébral; 2 : cartilage ; 3 : nucleus pulposus).

5 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

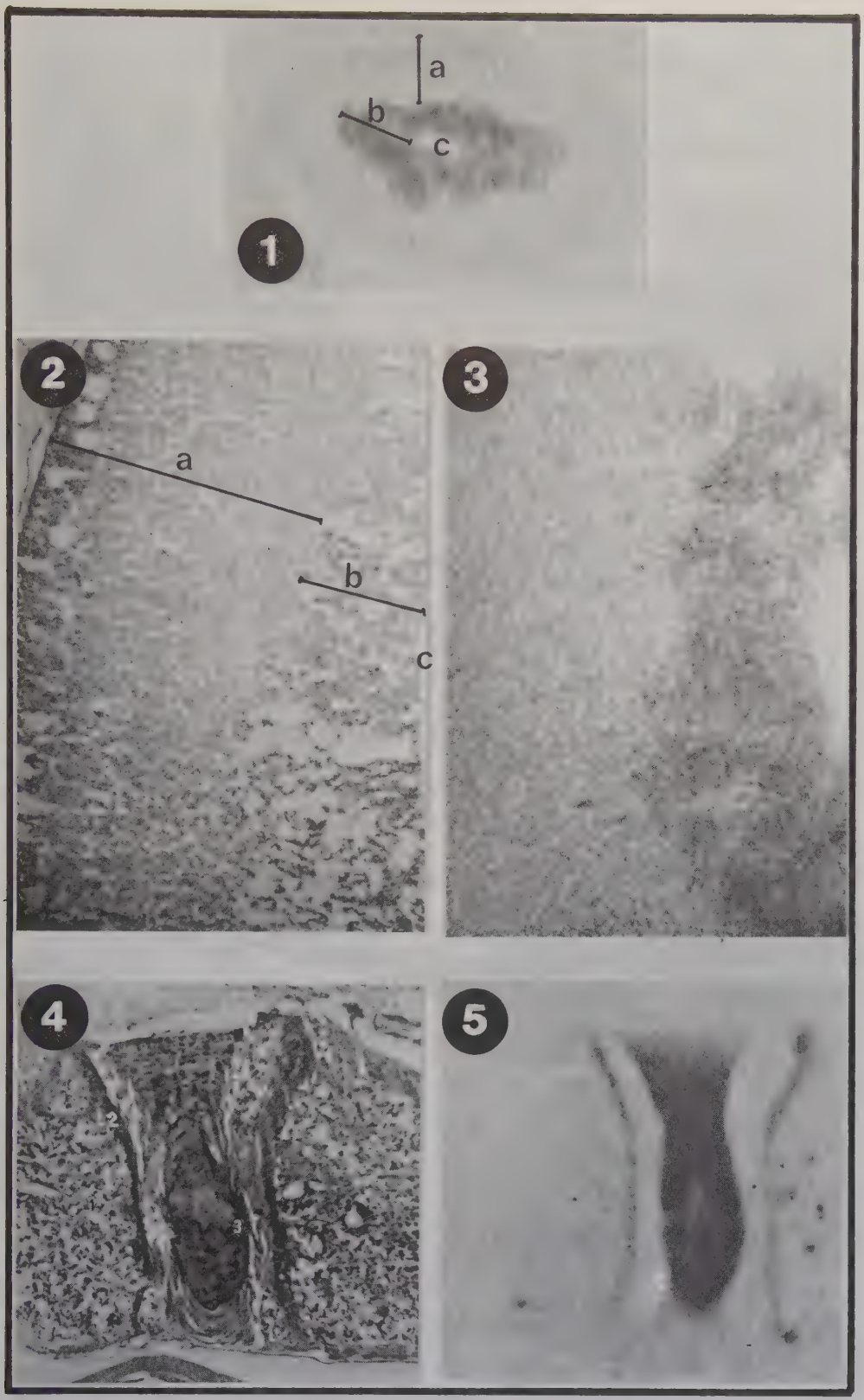

a
b
c
1
2
a
b
c
3
4
2
3
5

PLANCHE VIII

Fixation du paraquat -^{14}C sur l'oeil et ses annexes

1 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 24 heures après administration du paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur l'oeil.

2 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 48 heures après administration du paraquat -^{14}C, mettant en évidence la fixation sur l'oeil.

Etude en microscopie photonique de la fixation sur l'oeil

3 : Coupe histologique (X 20)

4 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

5 : Agrandissement de la zone A mettant en évidence deux mélanocytes dans la paupière.

6 : Autoradiogramme correspondant.

7 : Agrandissement de la zone B

8 : Autoradiogramme correspondant

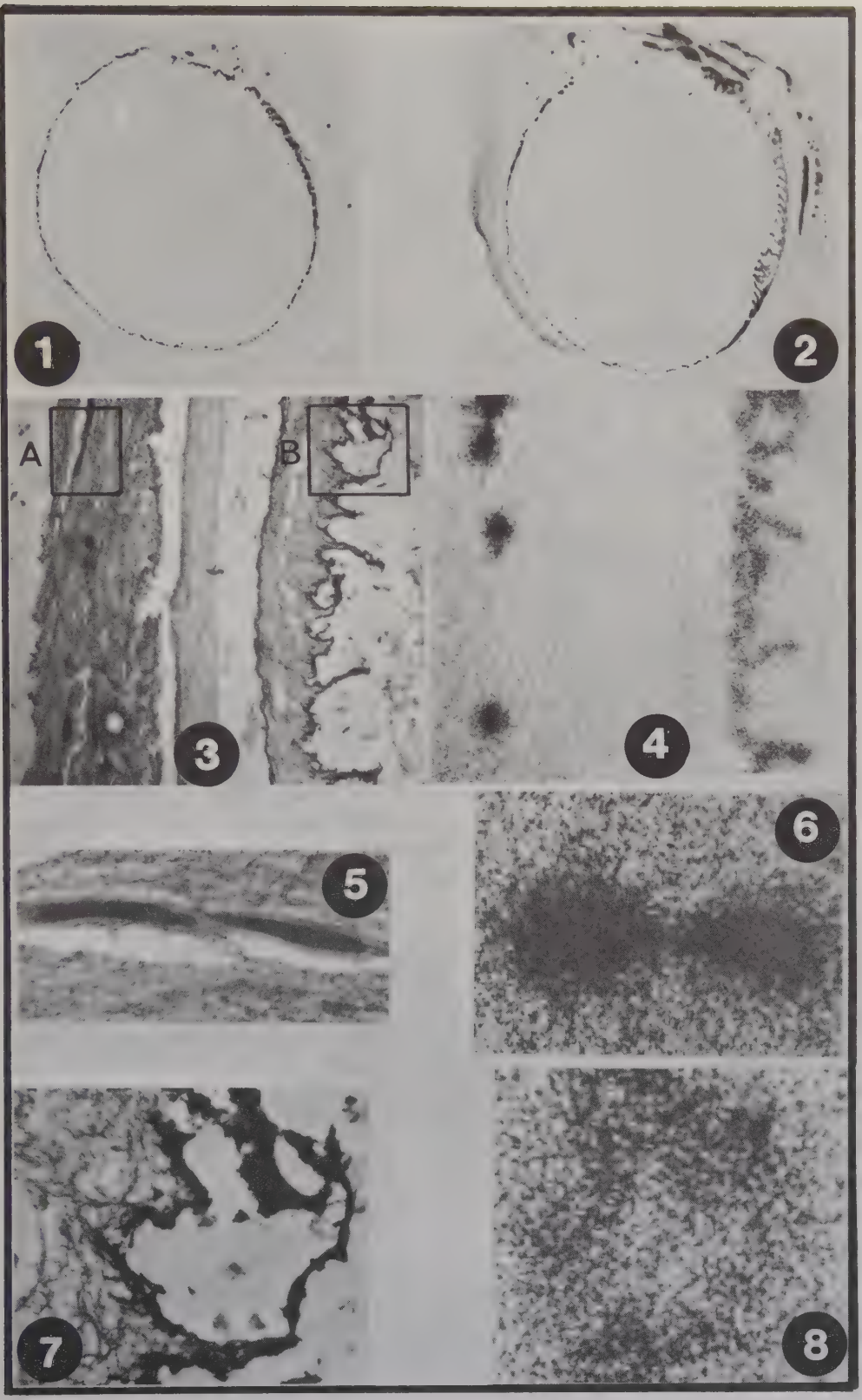

1
2
A
B
3
4
5
6
7
8

PLANCHE IX

1 : Fixation du paraquat -^{14}C sur le cerveau :

Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 48 heures après administration du produit par voie orale (1 : bulbe olfactif ; 2 : 3ème ventricule ; 3 : corps calleux ; 4 : cortex ; 5 : tégument ; 6 : cervelet).

Fixation du paraquat -^{14}C sur le foie et la vésicule biliaire

2 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 7 heures après administration du paraquat -^{14}C, par voie orale, et mettanten évidence la fixation sur le foie (1 : parenchyme hépatique ; 2 : vésicule biliaire; 3 : vaisseau sanguin).

3 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 24 heures après administration du paraquat -^{14}C par voie orale, et mettant en évidence la fixation sur le foie.

4 : Fixation du paraquat -^{14}C sur l'appareil dentaire

Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 4 heures après administration par voie orale du produit (1 : langue ; 2 : racine dentaire).

5 : Fixation du paraquat -^{14}C sur la muqueuse gastrique : agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 4 heures après administration du produit par voie orale.

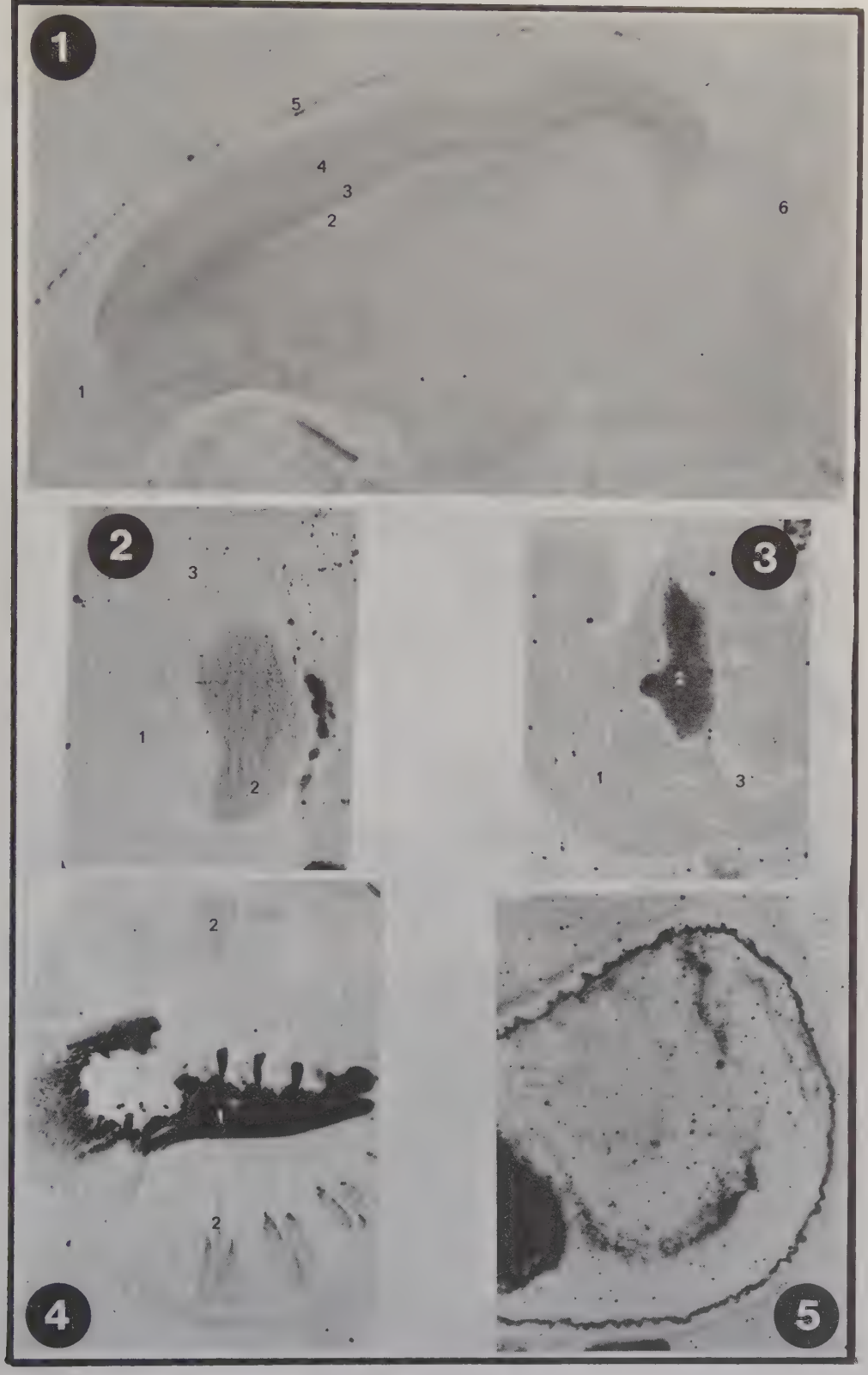

1
5
4
3
2
6
1
2
3
1
2
3
1
3
2
2
1
2
4
5

PLANCHE X

Fixation du paraquat -^{14}C sur la muqueuse linguale

1 : Agrandissement de l'autoradiogramme obtenu chez le lièvre sacrifié 48 heures après administration du paraquat -^{14}C par voie orale, mettant en évidence la fixation sur les muqueuses linguale et palatine.

Etude en microscopie photonique de la fixation sur la muqueuse linguale (agrandissement de la zone C)

2 : Coupe histologique (X 20)

3 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

Etude en microscopie photonique de la fixation sur la muqueuse linguale (Agrandissement de la zone B)

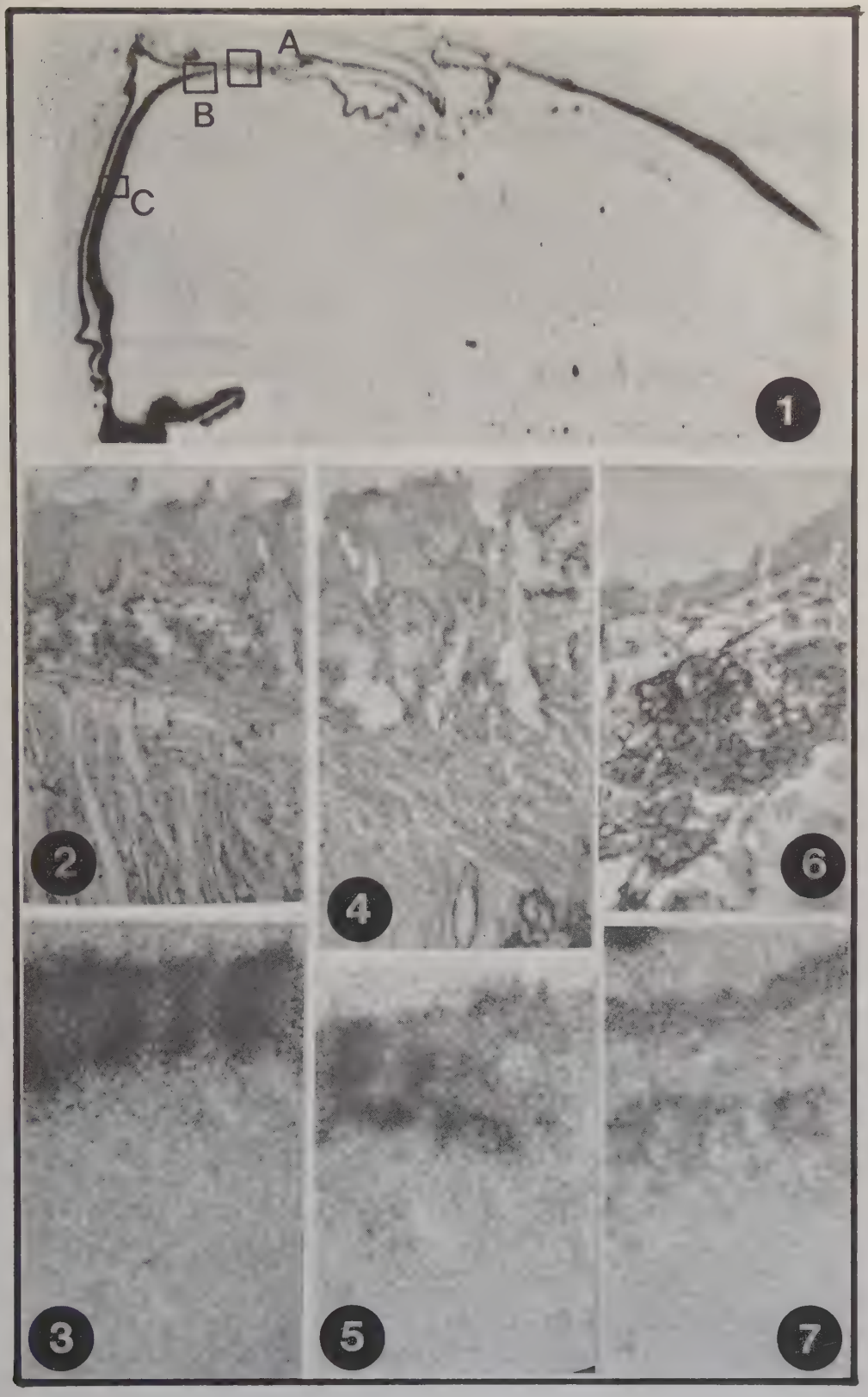
4 : Coupe histologique (X 20)

5 : Autoradiogramme correspondant (X 20)

Etude en microscopie photonique de la fixation sur la muqueuse linguale (Agrandissement de la zone A)

6 : Coupe histologique (X 20)

7 : Autoradiogramme correspondant (X 20)


A
B
C
1
2
3
4
5
6
7

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire rapporteur

Professeur GODFRAIN

Vu : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

Professeur A. LAUTIE

Vu : Le Président de la Thèse

Professeur MONTASTRUC

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 30 Mars 1981
P/ LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PAUL SABATIER, et par délégation
LE VICE-PRESIDENT

Professeur L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

1. A.C.T.A.
Index phytosanitaire 1981.

2. ADACHI (H.) YOKOTA (T.) FUJIHARA (S.) NAKAMURA H. UCHINO (F.)
Two autopsy cases of paraquat poisoning
Tohoku J. Exp. Med., 1978, 125,4, 331-339

3. AKAVEIN (A.A.), LINSCOTT (D.L.)
The dipyridylium herbicides, paraquat and diquat
Res. Rev., 1969 ; 23, 97-145.

4. AUTOR (A.P.)
Reduction of paraquat toxicity by superoxyde dismutase.
Life Sci., 1974, 14, 1309.

5. AUTOR (A.P.), SCHMITT (S.L.)
Pulmonary fibrosis and paraquat toxicity.
in "Biochemical mechanisms of paraquat toxicity"
Ac. Press 1977, A.P. AUTOR ed., p. 175-186

6. BESCOL LIVERSAC (J.), PAQUELIN (A.), GUILLAM (C)
Etude de l'ultrastructure d'une biopsie rénale obtenue à partir d'un patient empoisonné par le paraquat.
Eur. J. Toxicol. Environ. Hyg., 1975, 8,4, 236-246.

7. BIER (B.K.), OSBORNE (I.J.T.)
Pulmonary changes in paraquat poisoning.
Radiology, 1978, 127, 2, 308

8. BLOCK (E.R.)
Potentiation of acute paraquat toxicity by vitamin E deficiency.Lung, 1979, 156, 3, 195-204

9. BUS (J.S..), AUST (S.D.), GIBSON (J.E.)
Lipid peroxydation : a possible mechanism for paraquat toxicity Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1975, II, I, 31-37.

10. BUS (J.S.), GIBSON (J.E.)
Postnatal toxicity of chronically administered paraquat in mice and interaction with oxygen and bromobenzene. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1975, 33, 3, 461-470.

11. BUS (J.S.), PREACHE (M.M.), CAGEN (S.Z.), POSNER (H.S.), ELVASON (B.C.) SHARP (C.W.), GIBSON (J.E.)
Fetal toxicity and distribution of paraquat and diquat in mice and rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1975, 33, 3, 450-460

12. BUTLER (C.I.), KLEINERMAN (J.)
Paraquat in the rabbit.
Brit. J. Ind. Med., 1971, 28, 1, 67-71.

13. CALDERBANK (A), MAC KENNA (R.H.), STEVENS (M.H) WALLEY (J.K)
Grazing trials on paraquat treated pasture
J. Sci. Fd. Agric., 1968, 19, 246-250.

14. CHEVALIER (G.), COLLET (A.J.)
In vivo incorporation of choline -^{3}H, leucine -^{3}H and galactose -^{3}H in alveolar type II pneumocytes in relation to surfactant synthesis. A quantitative radiographic study in mouse by electron microscopy.
Anat. Rec., 1972, 174, 289-310.

15. DALLY (S.) EFTHYMIOU (M.L.)
Le danger des herbicides.
Concours médical, 1977, 7262-7274.

16. DARKE (P.G.G.), GIBBS (C.), KELLY (D.F.), MORGAN (D.G.), PEARSON (H.) WEAVER (B.M.Q.)
Acute respiratory distress in the dog associated with paraquat poisoning
Vet. Rec., 1977, 180, 275-277.

17. DASTA (J.F.)
Paraquat poisoning : a review.
Am. J. Hosp. Pharm., 1978, 35, 1368-1372

18. DELATOUR (P.)
Toxicité du paraquat chez les bovins
Bulletin du C.N.I.T.V., 1977, 2, 106-108

19. DE LAVAUR (E.), SIOU (G.), GROLLEAU (G.)
Intoxication expérimentale de lièvres par de la luzerne traitée au paraquat.
Ann. Zool. Ecol. Anim., 1973, 5, 4, 609-622.

20. DE LAVAUR (E.), SIOU (G.), GROLLEAU (G.), CARPENTIER LE SECH (J.)
Etude comparée de l'action du diquat et du paraquat sur la muqueuse digestive de la souris, du rat et du lapin.
Ann. Zool. Ecol. Anim., 1979, 11, 2, 159-170

21. ECKER (J.L.), HOOK (J.B.), GIBSON (J.E.)
Nephrotoxicity of paraquat in mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1975, 34, 1, 178-186

22. ETHERTON (J.E.), GRESHAM (G.A.)
Early bronchiolar damage following paraquat poisoning in mice.
J. Pathol., 1979, 128, 1, 21-27

23. FAIRSHTER (R.D.), WILSON (A.F.)
Paraquat poisoning : manifestations and therapy.
Am. J. Med., 1975, 59, 6, 751-753

24. FOWLER (B.A.) BROOKS (R.E.)
Effects of the herbicide paraquat on the ultrastructure of mouse kidney.
Am. J. Pathol., 1971, 63, 3, 505-512

25. GANTER (P.) JOLLES (G)
Histochimie
Paris, Gauthier-Villars ed., tome II, 1533-1534 et 1540-1542

26. GEE (B.R.) FARROW (C.S.) WHITE (R.J) ORR (J)
Paraquat toxicity resulting in respiratory distress syndrome in a dog
J. Am. Hosp. Ass., 1978, 14, 256-263

27. GRANIER (R.), CONSO (F.) EFTHYMIOU (M.L.)
Toxicité du paraquat en milieu professionnel
Bull. Med. Leg., Toxicol, 1980, 23, 3, 227-237

28. GRANT (H.C.) LANTOS (P.L.) PARKINSON (C.)
Cerebral damage in paraquat poisoning
Histopatho, 1980, 4, 1985-1995

29. GROUPEMENT FRANCAIS DE LUTTE CONTRE LES INTOXICATIONS (CONSO F.)
Intoxication aigüe par le paraquat ; expérience des centres anti-poisons Français
Bull. Med. Leg., Toxicol., 1978, 21, 1, 117-120

30. GUYON (F.) BISMUTH (C.) DAUCHY (F.)
Intoxication massive par le paraquat
J. Eur. Toxicol., 1974, 7, 3, 182-187

31. HEATH (D.), SMITH (P.)
The pathology of the lung in paraquat poisoning in "Biochemical mechanisms of paraquat toxicity"
New York, Ac. Press 1977, Autor A.P. ed. p.39-56

32. HOLLINGER (M.A.), GIRI (S.N.)
Binding of radioactivity from (^{14}C) paraquat to rat lung protein in vitro
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1978, 19, 2, 329-336

33. JOHNSON (R.P.)
Paraquat poisoning in a dog and cat
Vet. Rec., 1976, 98, 189-191

34. KIMBROUGH (R.D.)
Toxic effects of the herbicide paraquat
Chest, 1974, 6S., 65-67 (S : supplément)

35. KORNBRUST (D.J.), MAVIS (R.D.)
The effect of paraquat on microsomal peroxidation in vitro and in vivo.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1980, 53, 2, 323-332

36. LARSSON (B.) OSKARSSON (A.) TJÄLVE (H.)
Binding of paraquat and diquat on melanin
Exp. Eye Res., 1977, 25, 4, 353-360

37. LARSSON (B.) OSKARSSON (A.) TJÄLVE (H.)
On the binding of the bisquaternary ammonium compound paraquat to melanin
Biochem. Pharmacol. 1978, 27, 13, 1721-1724

38. LARSSON (B.) TJÄLVE (H.)
Studies of the mechanism of drug binding to melanin
Biochem. Pharmacol., 1979, 28, 7, 1181-1188

39. LEDWITH (A.)
Electron transfert reactions of paraquat. In "Biochemical mechanisms of paraquat toxicity"
Ac. Press 1977, A.P. AUTOR ed., 21-38

40. LEONPACHER (R.I.)
Herbicide poisoning in a dog. in "Clinical and diagnostic veterinary toxicology" (Kendal & Hunt Ed. 1973)

41. LITCHFIELD (M.H.), DANIEL (J.W.), LONGSHAW (S)
The tissue distribution of the bipyridylium herbicides diquat and paraquat in rats and mice.
Toxicology, 1973, 1, 155-165.

42. LOCK (E.A.) ISHMAEL (J.)
The acute toxic effects of paraquat and diquat on the rat kidney.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1979, 50, 1, 67-76

43. LORGUE (G.), DELATOUR (P.)
Fiche toxicologique : les dipyridyliums
Rev. Med. Vet., 1973, 124, 12, 1596-1597

44. LUTZ-OSTERTAG (Y.) HENOU (C.)
Action du paraquat sur le tractus urogénital de l'embryon de poulet et de caille.
C.R. Soc. Biol., 1974, 168, 304-307.

45. MANKTELOW (B.W.)
The loss of pulmonary surfactant in paraquat poisoning : a model for the study of the respiratory distress syndrom.
Brit. J. Exp. Pathol., 1967, 48, 366-369

46. MILHAUD (G. PINAULT (L.)
Toxicité des herbicides pour le bétail et le gibier.
Rec. Med. Vet., 1977, 153, 4, 253.

47. MONTGOMERY (M.R.)
Paraquat toxicity and pulmonary superoxyde dismutase : an enzymic deficiency of lung microsomes.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1977, 16, 1, 155-158.

48. MURRAY (R.E.) GIBSON (J.E.)
Lethality and pharmacokinetics of paraquat in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1971, 19, 405.

49. MURRAY (R.E.), GIBSON (J.E.)
A comparative study of paraquat intoxication in rats, guinea pigs and monkeys.
Exp. Molec. Pathol., 1972, 17,3, 317-325

50. MURRAY (R.E.) GIBSON (J.E.)
Paraquat disposition in rats, guinea pigs and monkeys.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1974, 27, 283-291

51. NEORAL (L.) DUSEL (J.) SMYSL(B)
A contribution to the pathogenesis of lethal paraquat poisoning.
Z. Rechtmed., 1977, 80, 1, 1-8

52. NIENHAUS (H.) EHRENFELD (M.)
Pathogenesis of lung disease in paraquat poisoning
Beitr. Pathol., 1971, 142, 3, 244-267.

53. NOTE TECHNIQUE DU JOURNAL EUROPEEN DE TOXICOLOGIE
Dosage du paraquat dans les milieux biologiques
J. Eur. Toxicol., 1973, 4-5, 237-239

54. OMAYE (S.T.) KRISHNA (A.R.) CARROL (E.C.)
Enhanced Lung toxicity of paraquat in selenium deficient rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978, 43, 2, 237-248

55. PURSER (D.A.) ROSE (M.S.)
The toxicity and renal handling of paraquat in cynomolgus monkeys.
Toxycology, 1979, 15, 31-41

56. ROGERS (A.M.P.) SPILLANE (T.A.) FEVLON (M.) HENAGHAN (T.)
Suspected paraquat poisoning in pigs and dogs
Vet. Rec., 1973, 143, 44-45.

57. ROSE (M.S.) SMITH (L.L.) WYATT(I)
Evidence for the energy dependent accumulation of paraquat into the lung
Nature, 1974, 252, 314

58. ROSE (M.S.) SMITH (L.L.)
Tuine uptake of paraquat and diquat
Gen. Pharmac. 1977, 8, 173-176

59. ROSE (M.S.) SMITH (L.L.)
The relevance of paraquat accumulation by tissues in "Biochemical mechanisms of paraquat toxicity"
New York, Ac, Press 1977, Autor A.P. ed.p.71-92

60. SEIDENFELD (J.J. WYCOFF (D.) ZAVALA (D.C.)
RICHERSON (H.B.)
Paraquat lung injury in rabbits
Brit. J. Ind. Med., 1978, 35, 245-257

60. SHU (H.), TALCOTT (R.E.) RICE (S.A.), WEI (E.T.)
Lipid peroxidation and paraquat toxicity
Biochem. Pharmacol. 1979,28,327,331.

61. SMALLEY (M.E.)
Toxicity and hazard of the herbicide paraquat in turkeys.
Poultry Sci., 1973, 52, 4, 1625-1628

62. SPECTOR (D.) WHORTON (D.) ZACHARY (J.) SLAVIN(R.)
Fatal paraquat poisoning : tissue concentrations and implications for treatment.
Johns Hopkins Medical-Journal, 1978, 142, 110-113

63. STEFFEN (C.) NETTER (K.J.)
On the mechanism of paraquat action on microsomal oxygen reduction and its relation to lipid peroxidation
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1979, 47, 3, 593-602

64. TALCOTT (R.E.) SHU (H.) WEI (E.T.)
Dissociation of microsomal oxygen reduction and lipid peroxidation with the electron acceptors, paraquat and menadione.
Biochem. Pharmacol., 1979, 28, 665

65. TONER (P.G.) VETTERS (J.M.) SPILG (W.G.S.)
HARLAND (W.A.)
Fine structure of the lung lesions in a case of paraquat poisoning
J. Pathol. 1970, 102, 3, 182-185

66. ULLBERG (S.)
Autoradiographic studies on the disposition of unlabelled drugs in the body. Proceedings of the second United Nations international conference on the peaceful uses of atomic energy.
GENEVE (United Nations), 1958, 1 vol., 248-254

67- VAZIRI (N.D.) NESS (R.L.) FAIRSHTER (R.D.)
SMITH (W.R.) ROSEN (S.M.)
Nephrotoxicity of paraquat in man
Arch. Int. Med., 1979, 139, 172-174

68. VERMA (S.P.) BAHGA (H.S.)
Acute toxicity studies on paraquat (I,I'-Dimethyl 4,4'- dipyridylium dichloride).
Indian J. Anim. Sci., 1976, 46, 8, 403-413.

69. VIJEYARATNAM (G.S.),CORRIN (B.)
Experimental paraquat poisoning : a histological and electron-optical study of the changes in the lung.
J. Pathol., 1971, 103, 2, 123-129

70. VIZEK (H.) HOLUSA (R.) PALECEK (F.)
Lung function in acute paraquat intoxication
Physiol. Behemoslov., 1975, 24, 6, 559-563

71. WADDEL (W.J.) MARLOWE (C.)
Tissue and cellular disposition of paraquat in mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1980, 56, 127-140.

72. WITSCHI (H.P.) HIRAI (K.I.) COTE (M.G.)
Primary events in lung following exposure to toxic chemicals;in "Biochemical mechanisms of paraquat toxicity"
Ac. Press 1977, A.P. Autor ed., p. 1-20